Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»

О. Н. САХНО О. Г. СЕЛИВАНОВ
В. Ю. ЧУХЛАНОВ

БИОСТОЙКОСТЬ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И МЕТОДЫ ЕЕ ОЦЕНКИ

Учебное пособие

Владимир 2018

УДК 579.66
ББК 28.4
С22

Рецензенты:

Доктор биологических наук, доцент
доцент кафедры психологии и коррекционной педагогики
Владимирского института развития образования имени Л. И. Новиковой
Г. И. Каторгина

Доктор химических наук, профессор
зав. кафедрой химии Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых
Б. А. Кухтин

Издается по решению редакционно-издательского совета ВлГУ

С22 **Сахно, О. Н.** Биостойкость полимерных материалов и методы ее оценки : учеб. пособие / О. Н. Сахно, О. Г. Селиванов, В. Ю. Чухланов ; Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2018. – 84 с. – ISBN 978-5-9984-0860-1.

Рассматривает вопросы биостойкости полимерных материалов и лакокрасочных покрытий к действию микроорганизмов, методики ее оценки, а также проблемы санитарно-микробиологических исследований полимерных материалов.

Предназначено для студентов вузов всех форм обучения по направлению 05.03.06 – «Экология и природопользование» для подготовки по дисциплинам: «Экология микроорганизмов», «Экологическая эпидемиология», направлению 06.03.01 – «Биология» для подготовки по дисциплине «Экология микроорганизмов» и направлению 18.03.01 – «Химическая технология» для подготовки по дисциплине «Технологические и эксплуатационные свойства пластмасс и изделий из них». Будет полезно магистрантам, аспирантам и слушателям системы дополнительного профессионального образования.

Рекомендовано для формирования профессиональных компетенций в соответствии с ФГОС ВО.

Ил. 7. Табл. 5. Библиогр.: 48 назв.

УДК 579.66
ББК 28.4

ISBN 978-5-9984-0860-1

© ВлГУ, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5

1. БИОПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ 6

1.1. Общая характеристика и классификация грибов 9

1.2. Общая характеристика и классификация бактерий 15

1.3. Биологические особенности грибов, повреждающих полимерные материалы 17

1.4. Воздействие микроорганизмов на отдельные виды полимерных материалов 21

1.5. Биоповреждение лакокрасочных материалов и покрытий плесневыми грибами 28

1.6. Методы защиты полимерных материалов от биоповреждений 34

Контрольные вопросы 38

2. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ИХ КОМПОНЕНТОВ НА СТОЙКОСТЬ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ 39

2.1. Метод оценки полимерных материалов на стойкость к воздействию плесневых грибов в натурных условиях 39

2.1.1. Отбор образцов 40

2.1.2. Подготовка к испытаниям 40

2.1.3. Проведение испытаний 40

2.1.4. Оценка результатов 41

2.2. Метод оценки полимерных материалов на стойкость к воздействию плесневых грибов в лабораторных условиях ... 41

2.2.1. Метод 1 42

2.2.1.1. Отбор образцов 42

2.2.1.2. Виды грибов 43

2.2.1.3. Подготовка к испытаниям 43

2.2.1.4. Контроль жизнеспособности спор грибов 45

2.2.1.5. Проведение испытаний 45

2.2.1.6. Стерилизация и хранение посуды 46

2.2.2. Метод 2 47
2.2.2.1. Отбор образцов 47
2.2.2.2. Виды грибов 47
2.2.2.3. Подготовка к испытаниям 47
2.2.2.4. Проведение испытаний 47
2.2.3. Метод 3 49
2.2.3.1. Отбор образцов 49
2.2.3.2. Виды грибов 49
2.2.3.3. Подготовка к испытаниям 49
2.2.3.4. Проведение испытаний 49
2.3. Международные стандарты определения стойкости полимерных материалов к плесневым грибам и бактериям ... 50
2.4. Метод испытаний лакокрасочных покрытий на устойчивость к воздействию плесневых грибов..... 53
2.4.1. Отбор образцов..... 53
2.4.2. Виды грибов..... 53
2.4.3. Подготовка к испытаниям..... 53
2.4.4. Проведение испытаний 53
Контрольные вопросы 54
3. САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ..... 55
3.1. Определение сроков выживания микроорганизмов (тест-культур) на поверхности полимерных материалов 56
3.2. Изучение антимикробной активности материалов 58
3.3. Определение степени микробного загрязнения поверхностей полимерных материалов в процессе эксплуатации..... 60
Контрольные вопросы 60
4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ..... 61
4.1. Меры индивидуальной защиты и гигиены 61
4.2. Требования к оборудованию 61
4.3. Требования к помещению..... 62
Контрольные вопросы 62
ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... 63
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 64
РЕКОМЕНДАТЕЛЬНЫЙ БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК 66
ПРИЛОЖЕНИЯ 69
СЛОВАРЬ 78

ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях представить нашу жизнь без использования полимерных материалов практически невозможно. Тот набор ценных физико-механических свойств, которыми они обладают, открывает перед ними неограниченную сферу применения: космическая техника, авиационный, автомобильный и водный транспорт, медицинская техника, компьютерная техника, строительные материалы, бытовые изделия и т. д.

Их применение неудержимо растет с каждым годом, а условия эксплуатации варьируют от жаркого и влажного климата до работы при очень низких температурах.

Безотказность и надежность работы полимерных материалов в условиях жесткого применения во многом определяется не только их техническими и эксплуатационными свойствами, но и стойкостью к воздействию природных факторов, естественной составляющей которых являются микроорганизмы: плесневые грибы, бактерии, актиномицеты.

Будучи составной частью окружающей среды, эти микроорганизмы в силу специфики своей жизнедеятельности способны быстро адаптироваться к самым различным материалам и постоянно изменяющимся природным условиям и заражать материалы, приборы, изделия в процессе их эксплуатации, хранения, транспортировки и т. д.

Ущерб, причиняемый полимерным материалам различными биологическими агентами, особенно грибами и бактериями, достигает существенных размеров.

Изучение видового разнообразия биодеструкторов, методов их выявления, оценка стойкости полимерных материалов к биоповреждению, разработка биологически устойчивых материалов – все это представляет важную научно-техническую задачу, решение которой возможно только при объединении усилий химиков, биологов и экологов.

1. БИОПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Взаимоотношения биосферы и создаваемых человеком материалов, изделий и технических устройств носят сложный и многоплановый характер вследствие огромного разнообразия живых микроорганизмов, вызывающих биоповреждения, и объектов их нападения. Среди различных видов биоповреждений микробиологические наиболее распространены и приносят самый сильный ущерб. Их доля составляет около 20 % от общего числа поврежденных материалов.

Биоповреждение (*биологическое повреждение*) – это любое изменение (нарушение) структурных и функциональных характеристик объекта, вызываемое биологическим фактором. Под биологическим фактором подразумевают организмы или их сообщества, воздействие которых на объект техники нарушает его работоспособное состояние.

При этом биоповреждение материалов микроорганизмами происходит с участием не какой-либо одной группы, а всех существующих видов микроорганизмов (бактерий, мицелиальных грибов, дрожжей, водорослей, лишайников и т. д.).

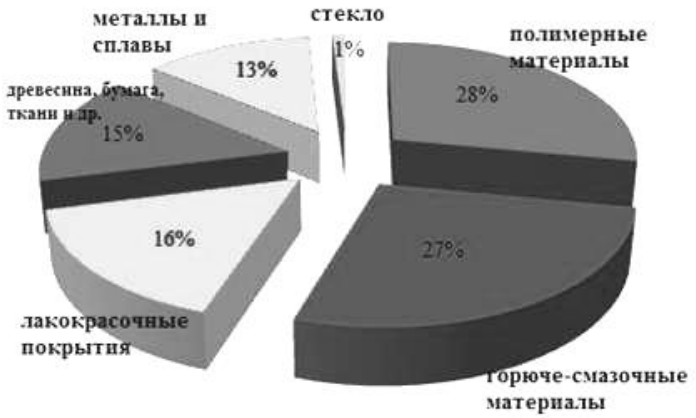


Рис. 1. Количественное соотношение биоповреждений различных материалов

Практически все используемые в изделиях техники материалы подвержены воздействию микроорганизмов – микробиологическому повреждению. Исследования, проведенные российскими учеными [1], показали, что в реальных условиях эксплуатации наиболее часто микроорганизмы повреждают изделия из полимерных материалов. Количественное соотношение биоповреждений различных материалов представлено на рис. 1.

Как видно из рис. 1, доля повреждения полимерных материалов составляет 28 %.

Процесс микробиологического повреждения как органических, так и неорганических материалов довольно сложный, и в целом на современной ступени изучения его характеризуют следующие этапы [2]:

- перенос микроорганизмов из воздушной, водной сред или почв на поверхность материала – этап, предшествующий возникновению биоповреждений материалов;

- адсорбция микроорганизмов и загрязнений на поверхность материалов, связанная со следующими факторами: активностью микроорганизмов, шероховатостью поверхности материала, характером среды, например, наличием кислорода в воздухе, температурным интервалом, относительной влажностью воздуха, pH среды и т. д.;

- образование и рост микроколоний до видимых невооруженным глазом;

- воздействие продуктов метаболизма, образующихся в результате жизнедеятельности колоний микроорганизмов, на материал (кислотное, щелочное, окислительное, ферментативное);

- стимулирование коррозионного разрушения металлов и старения полимеров, сопутствующих биоповреждениям;

- синергизм биоповреждений, который происходит в результате наложения ряда факторов и взаимного стимулирования процессов разрушения материалов (собственно биоповреждений, старения, коррозии, изнашивания, усталостных явлений и т. д.).

Синергизм биоповреждений – один из ключевых этапов [3]. Между существующими на поверхности материала микроорганизмами возникают новые связи, в результате которых формируются взаимно функционирующие ассоциации, обеспечивающие выживание и адаптацию отдельных видов, создаются условия жизнедеятельности, когда одни микроорганизмы способствуют развитию других видов, что существенно усиливает процесс повреждения материала в результате эффекта синергизма.

Обычно в качестве биологического агента повреждения рассматривают микромицеты, и считается, что именно они представляют наибольшую опасность. В то же время роль бактерий, приводящих к нарушению технологических и эксплуатационных свойств полимерных материалов учитывается в значительно меньшей степени. Тем не менее один и тот же материал, в зависимости от климатических условий региона, может быть подвержен бактериальному разрушению даже в боль-

шей степени, чем разрушению микроскопическими грибами. Поэтому при оценке биологической устойчивости материалов следует учитывать и фактор повреждения бактериальной микрофлорой.

Для полимерных материалов различают три вида воздействия микроорганизмов [4]:

1) биозасорение;

2) механическое воздействие, разрушение;

3) химическая деструкция под действием продуктов метаболизма (органических кислот, ферментов, аминокислот, пигментов).

Биологическое засорение (*биозасорение*) – состояние объекта, связанное с присутствием биофактора, после удаления которого восстанавливаются функциональные свойства объекта. В данном случае микроорганизмы развиваются на поверхности полимерных материалов только за счет пыли, минеральных и органических загрязнений. Не затрагивая самого материала, они вызывают лишь его биозасорение.

Механическое разрушение полимерных материалов происходит за счет разрастания гиф мицелия гриба, развивающих высокое тургорное давление (напряженное состояние оболочек живых клеток).

Разрушение полимерных материалов под воздействием продуктов метаболизма микроорганизмов наступает в результате различных реакций: окисления, восстановления, декарбоксилирования, этерификации, гидролиза и т. д. При этом имеется четкое соответствие между категорией поражаемого полимерного материала и ферментативными свойствами присутствующей на нем микрофлоры. Есть определенные зависимости между степенью биоповреждений и химической структурой полимерного материала. Так, недоступны и труднодоступны для мицелиальных грибов связи C_4, $R\text{-}C_3$, $R\text{-}CH_2\text{-}R^1$. Ненасыщенные связи типа $R{=}CH_2$, $R{=}CH\text{-}R^1$, карбонильные и карбоксильные радикалы выступают как доступные формы углерода для микроорганизмов [5].

Биологическая устойчивость полимерных материалов зависит и от их молекулярной массы. Чем последняя меньше, тем больше низкомолекулярных фракций входит в состав полимерных смол, тем меньше они устойчивы к действию микроорганизмов. Важное значение имеет строение углеродной цепочки: прямое, разветвленное, замкнутое в кольцо. С этой точки зрения себациновая кислота более доступна, чем ароматическая фталевая [4]. Биоповреждение полимеров,

как правило, происходит одновременно с их старением под действием внешних физических и химических факторов окружающей среды (влага, перепады температур, УФ-излучение и т. д.). Оба процесса – биоповреждение и старение – дополняют и усугубляют друг друга [4]. Биоповреждение плесневыми грибами различных полимерных материалов приводит к значительным изменениям их физико-химических свойств, механических, диэлектрических и др. Действие грибов на кремнийорганические защитные покрытия сопровождается увеличением смачиваемости, коэффициента гидрофильности и тангенса угла диэлектрических потерь. Пораженные грибами полиуретаны теряют свои амортизационные свойства, эластичность и быстро раскалываются под давлением и при растяжке.

Биоповреждение полимерных материалов тесно связано с проблемой экологии человека, так как многие бактериальные и грибковые деструкторы – это условно-патогенные микроорганизмы, способные вызывать серьезные заболевания у человека. Наиболее жизнеспособными, а поэтому и крайне опасными среди микроорганизмов считаются микроскопические грибы – в силу быстрого роста мицелия, мощности и лабильности их ферментных систем, позволяющих им использовать в качестве источников питания различные материалы, в том числе и полимерные.

В связи с этим большое практическое значение приобретает проблема создания защитных биологически стойких полимерных покрытий различного назначения, обладающих теми или иными специальными свойствами в зависимости от условий эксплуатации. Изучение стойкости полимерных материалов к биоповреждению и разработка методов по созданию биологически устойчивых материалов представляют важную научно-техническую проблему, которая может быть разрешена только совместными усилиями инженеров, химиков, биологов и экологов.

1.1. Общая характеристика и классификация грибов

Грибы – низшие эукариотные одноклеточные и мицеальные хемоорганотрофные организмы. Их относят к особому царству *Mycota*. Представителей грибов делят на *макро-* и *микромицеты*. Макромицеты образуют крупные плодовые тела, отсутствующие у микромице-

тов. У последних на протяжении всего жизненного цикла имеются только микроскопические структуры. На рис. 2 представлены микроскопические грибы – микромицеты.

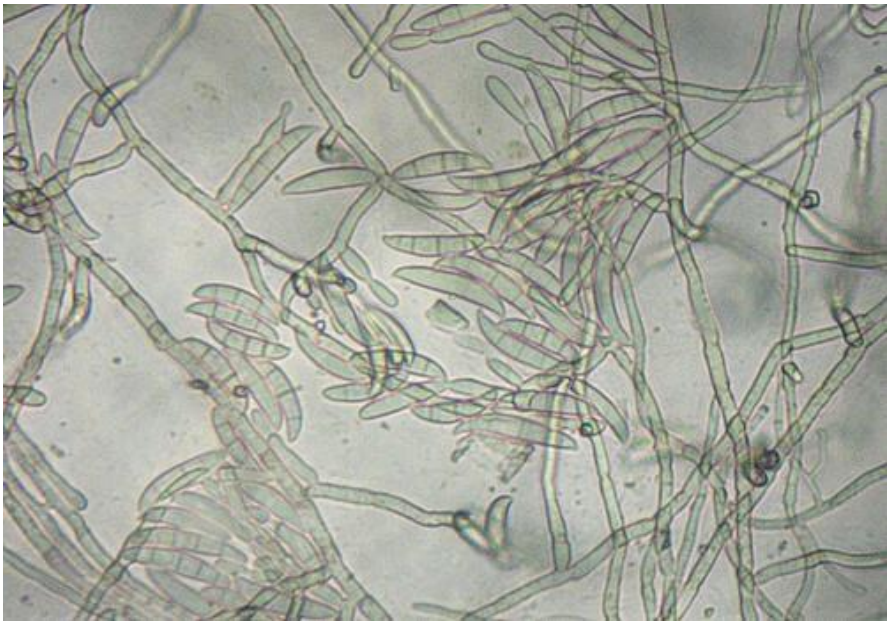


Рис. 2. Микрофотография микроскопических грибов

Общая морфологическая характеристика. Тело гриба, называемое *мицелием*, или *грибницей*, составляют разветвленные длинные нити, или *гифы*. У некоторых грибов нити гиф не имеют поперечных перегородок. Для большинства характерны гифы с поперечными перегородками – *септами*, разделяющими их на участки. На основании данного признака грибы делят на низшие – несептированные и высшие – септированные. На рис. 3 представлены вегетативные гифы грибов.

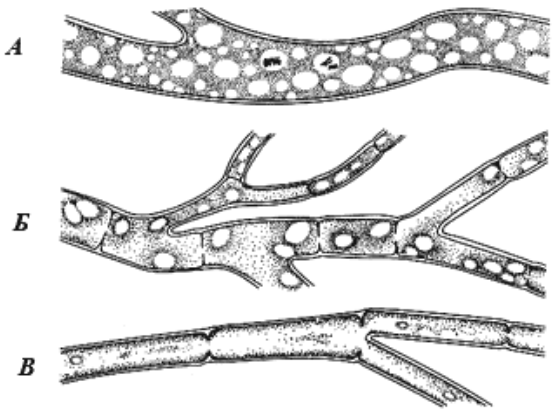


Рис. 3. Вегетативные гифы грибов: А – без поперечных перегородок (несептированные); Б – с перегородками (септированные); В – с неполными перетяжками

Грибы значительно крупнее бактерий и актиномицетов. Диаметр их гиф колеблется от 5 до 50 мкм и более. Клеточная стенка большинства грибов содержит хитин или близкие к нему соединения. Под кле-

точной стенкой находится зернистая цитоплазма. Она содержит большое количество рибосом, состоящих почти из одной РНК и служащих основным местом синтеза белка. В цитоплазме грибов есть митохондрии, в которых локализованы дыхательные ферменты, могут быть также включения волютина и жиров. В клетках грибов четко дифференцировано ядро, окруженное мембраной. Несептированный мицелий грибов содержит несколько ядер.

Наличие мицелия – один из отличительных признаков грибов. Отдельные участки мицелия грибов могут превращаться в специальные образования – *спорангии,* в которых формируются споры, служащие для сохранения или размножения вида. Способы размножения грибов весьма разнообразны. У них возможно вегетативное, бесполое и половое размножение. Специфичность размножения положена в основу систематики того или иного гриба.

Грибы широко распространены в природе. Их обнаруживают во всех естественных субстратах (почвах, растительных и животных остатках и т. п.), продуктах питания и т. д. Среди грибов есть не только сапротрофы, но и паразиты и даже хищники. В почве грибы участвуют в разложении органических веществ, в том числе таких сложных соединений, как целлюлоза, лигнин. Грибы могут вызвать порчу пищевых продуктов, деревянных построек, изделий из каучука и резины, нефтепродуктов и т. д. Отдельные виды являются возбудителями болезней растений, животных и человека.

Миксомицеты – отдел Myxomycota (рис. 4). Это группа своеобразных организмов, напоминающих по некоторым свойствам грибы, но в определенные периоды цикла развития сходных с амебами. Встречаются миксомицеты в виде слизистой массы, которые передвигаются, подобно амебам, выпуская псевдоподии. Тело этих микроорганизмов не разделено на клетки, в нем много ядер. Миксомицеты могут размножаться простым делением, но

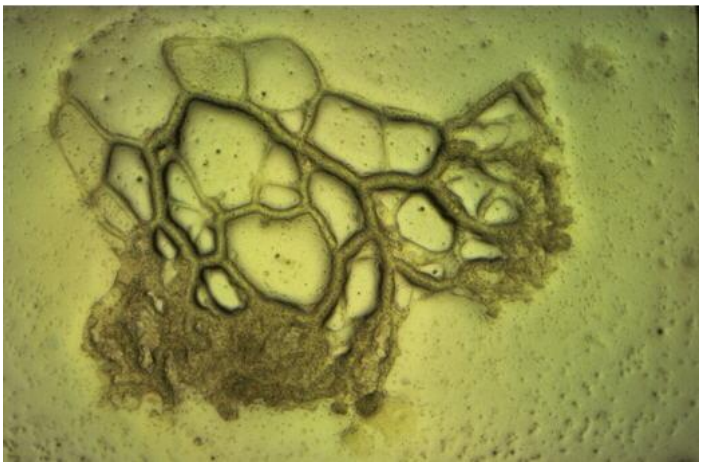


Рис. 4. Myxomycota

на определенной стадии развития две слизистые массы соединяются, образуя плодовое тело, в котором возникают споры. Последние, попадая в благоприятную среду, прорастают, затем начинают делиться, образуя амебоидные клетки. Некоторые из таких клеток – гамет – сливаются друг с другом с образованием зиготы, которая делится и разрастается до многоядерной слизистой массы.

Истинные грибы – отдел Eumycota. Эту группу делят на ряд классов, краткая характеристика которых приведена ниже.

Класс Chytridiomycetes характеризуется полным отсутствием мицелия или ценоцитным (неклеточным) мицелием. Представители данного отдела размножаются бесполым (зооспорами) или половым путем. Зооспоры и гаметы (планогаметы) имеют один задний жгутик, построенный по типу кнута. Многие хитридиомицеты – типичные водные организмы, однако есть среди них и обитатели почвы, паразиты растений, а также виды, живущие на отмерших растительных остатках.

Класс Zygomycetes – группа организмов, полностью утративших подвижные стадии развития. У его представителей наиболее часто отмечается половое размножение. Бесполое размножение осуществляется неподвижными спорангиеспорами, образующимися внутри спорангиев.

К данному классу в числе прочих относят представителей мукоровых грибов, широко распространенных в почвах. Мукоровые имеют хорошо развитый разветвленный одноклеточный мицелий, над которым возвышаются плодоносящие гифы – спорангиеносцы. Размножение бесполым путем происходит при помощи неподвижных спорангиеспор, образующихся внутри спорангиев. Среди часто встречающихся в почве мукоровых грибов можно отметить роды *Mucor, Thamnidium, Rhizopus* и др.

Класс Ascomycetes представляет самую обширную группу грибов с разветвленным многоклеточным мицелием. Размножение у аскомицетов происходит обычно при помощи конидий. Они размножаются и половым путем – *аскоспорами*, которые образуются после слияния ядер половых клеток – гамет – в сумке – аске. В аске могут развиваться две, четыре, шесть или восемь аскоспор. Аски располагаются в образованиях различной формы – в аскокарпиях, клейстотециях – вместилищах без отверстий, перитециях – вместилищах с отверстием или апотециях, имеющих форму чаши или куба.

К представителям класса *Ascomycetes*, часто встречающимся в почве, относят виды родов *Aspergillus, Penicillium* (рис. 5) и *Chaethomium*. Этим грибам свойственно размножение при помощи конидий, но иногда у них образуются сумки. Один из широко известных представителей отдела – спорынья.

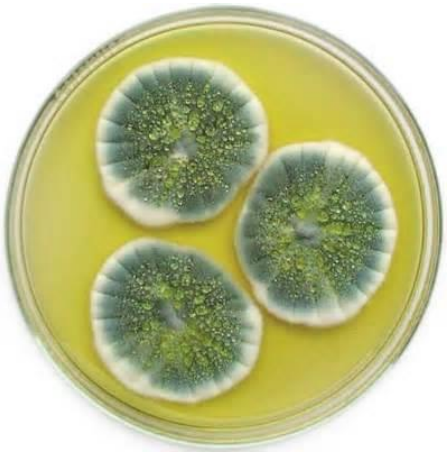


Рис. 5. Penicillium

Класс Basidiomycetes – мицелий этих грибов состоит из многоклеточных гиф. Ядро базидиомицетов дифференцированное. Половое размножение осуществляется *базидиями* – образованиями, сходными по функциям с сумками аскомицетов. Каждая базидия образуется после слияния ядер – гамет – и представляет собой цилиндрическую клетку, на конце которой формируются четыре *базидиоспоры*. Последние отделяются и, попадая в благоприятные условия, развиваются в новый мицелий.

К базидиомицетам относят многих вредителей сельскохозяйственных растений, например, возбудителей ржавчины и головни, вредителя древесины – домового гриба *Serpula lacrymans*, множество высших, в том числе съедобных, грибов, а также разнообразных сапротрофов, активно участвующих в разложении органических остатков.

Класс Deuteromycetes – сборная группа, включающая так называемые несовершенные грибы. Их тело состоит из расчлененных прозрачных или окрашенных многоклеточных гиф, иногда из почкующихся клеток. Размножаются исключительно бесполым путем, при котором образование конидий происходит на изолированных или расположенных группами конидиеносцах или в специальных образованиях, называемых *пикнидами*.

К дейтеромицетам относят грибы порядка *Sphaeropsidales*, *Melanconiales* и *Hyphomycetales* или *Moniliales*, представители которых широко распространены в почве.

Грибы порядка *Sphaeropsidales* характеризуются трещинами или конидиями, которые образуются в пикнидах, остающихся закрытыми или открывающихся наружу. К данному классу относят среди других и род *Phoma*, виды которого образуют микоризу с корнями некоторых растений.

Порядок *Melanconiales* включает организмы, не имеющие пикнид. Колонии меланкониевых грибов расположены на конидиеносцах, соединенных в особые образования – *ацервулы*.

Грибы порядка *Hyphomycetales* имеют расчлененные, разветвленные прозрачные или темноокрашенные гифы. Разнообразные по форме конидии грибов этой группы находятся на конидиеносцах, расположенных по одному или группами. В почве обитают виды многих родов, относящихся к данному классу: *Cephalosporium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Fusarium* и др.

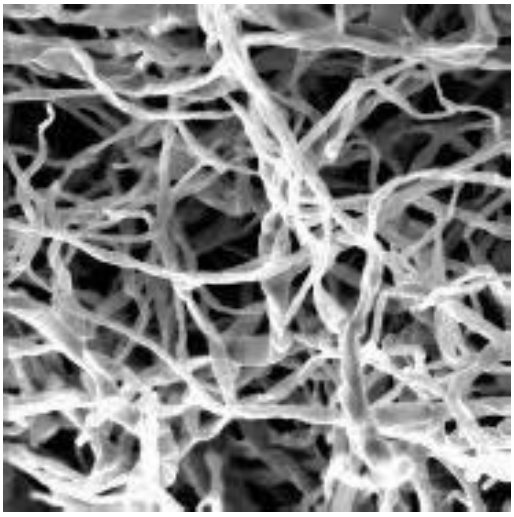


Рис. 6. Mycelia sterilia

Несовершенные грибы подразделяются на семейства в соответствии с типом мицелия и формой конидиеносцев. К несовершенным грибам относят также группу с неустановленным способом полового и бесполого размножения – *Mycelia sterilia* (рис. 6), или *грибы со стерильным мицелием*, сюда входит ряд грибов (*Sclerotium*, *Rhizoctonia* и др.), имеющих значение в почвенных процессах.

Дрожжи и ***дрожжеподобные*** грибы относят к классам *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* и *Deuteromycetes*. Так, в класс *Ascomycetes* входит порядок *Endomycetales* – дрожжеподобные сумчатые грибы, образующие эндоспоры. В упомянутый класс включают и семейство *Saccharomycetaceae*, представители которого почти лишены мицелия. Это одноклеточные организмы овальной формы, размножающиеся почкованием или делением.

В данное семейство входит хорошо изученный род *Saccharomyces*, многие виды которого, например *Saccharomyces cerevisiae*, имеют большое значение в пищевой промышленности. Эти дрожжи размножаются почкованием.

Виды рода *Schizosaccharomyces*, также относящегося к сахаромицетам, размножаются делением. Среди этих микроорганизмов есть возбудители спиртового брожения и дрожжи, вызывающие порчу вин, к ним относят и многие другие роды дрожжей, например *Nadsonia*, виды которого обуславливают порчу пищевых продуктов.

В класс *Ascomycetes* входят и наиболее типичные почвенные дрожжи рода *Lipomyces.*

Класс *Basidiomycetes* представлен дрожжами, у которых образуются половые структуры базидиального типа – базидиоспоры. Большая часть этих дрожжей родственна головневым грибам. Среди них – красные дрожжи рода *Rhodosporidium* и розовые рода *Sporobolomyces*, обитающие на поверхности листьев растений, в бесполой стадии размножающиеся баллистоспорами.

К классу *Deuteromycetes* относят дрожжеподобные организмы, не имеющие эндоспор. Они размножаются почкованием. Некоторые виды рода *Torula* вызывают спиртовое брожение. У дрожжей рода *Rhodotorula* синтезируется розовый пигмент, они вызывают порчу пищевых продуктов. Существуют и болезнетворные дрожжи, например некоторые виды *Candida*.

В почве встречается значительное число видов дрожжей, основная масса которых не вызывает спиртового брожения. Дрожжи – возбудители брожения – чаще всего содержатся в почвах виноградников.

К грибоподобным организмам в настоящее время относят представителей *класса Oomycetes*. Некоторые исследователи объединяют их в один таксон с водорослями.

Оомицеты – организмы с характерным половым процессом (*оогамией*) и подвижными зооспорами с двумя жгутиками – элементами бесполого размножения. Многие их представители – наземные облигатные паразиты, полный жизненный цикл которых проходит на растении-хозяине. К оомицетам относят фитопатогенные грибы, например роды *Pythium* и *Phytophtora*, вызывающие болезни сельскохозяйственных растений.

1.2. Общая характеристика и классификация бактерий

Бактерии – это очень мелкие (1 – 5 мкм) одноклеточные бесцветные микроорганизмы, имеющие разнообразные формы, наиболее распространены из которых следующие: сферическая (шаровидная), палочковидная (цилиндрическая) и извитые. К шаровидным бактериям относят микрококки, стафилококки, стрептококки, гонококки, пневмококки, тетракокки. К бактериям извитых форм относят вибрионы, спириллы, спирохеты. На рис. 7 представлены основные формы бактерий.

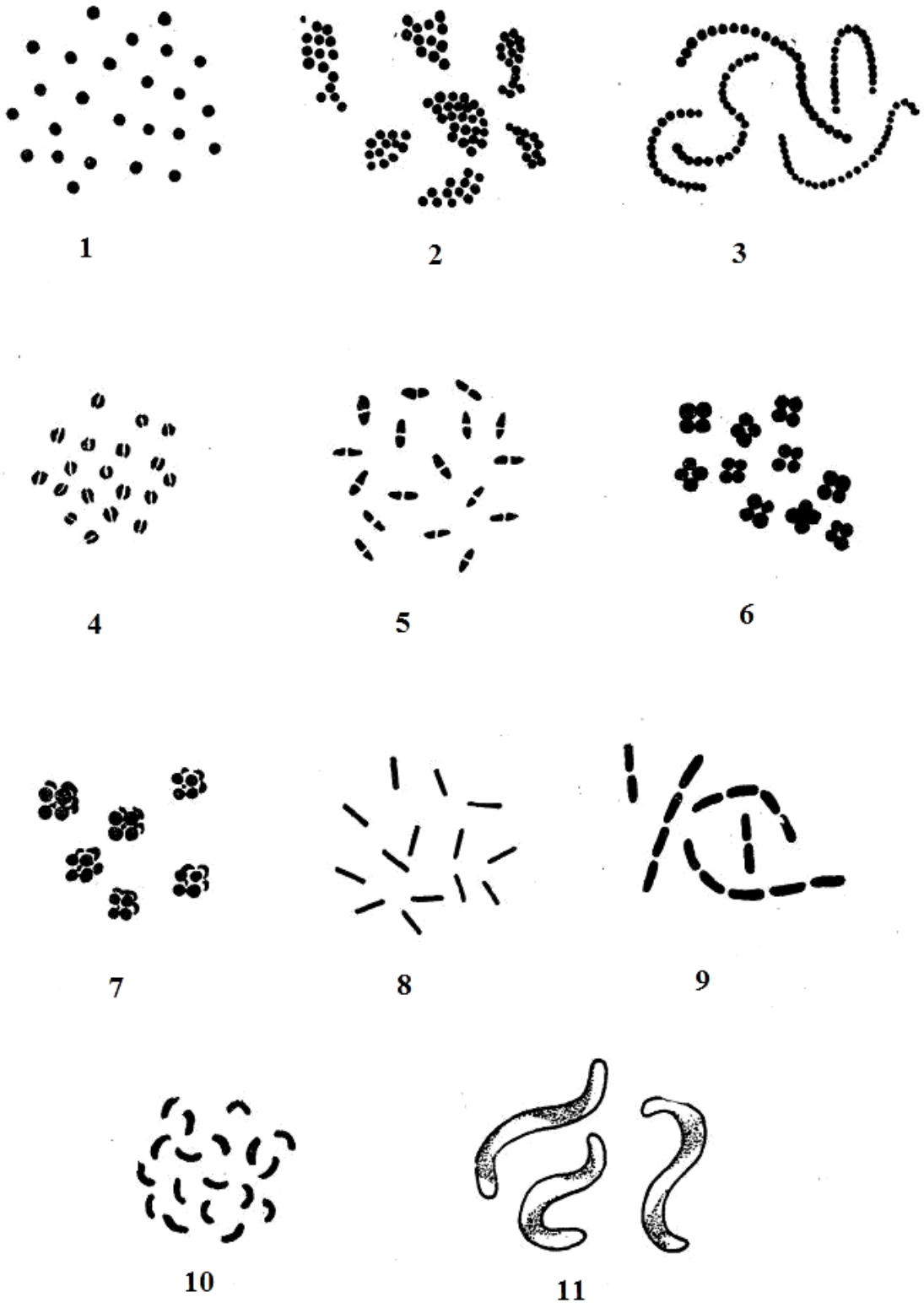


Рис. 7. Основные формы бактерий:
1 – микрококки; 2 – стафилококки; 3 – стрептококки;
4 – гонококки; 5 – пневмококки; 6 – тетракокки;
7 – сарцины; 8, 9 – различные формы палочек;
10 – вибрионы; 11 – спириллы

Шаровидные бактерии различают по сочетанию клеток: микрококки, диплококки, стрептококки, сарцины. *Микрококки* – одиночные шарообразные клетки. Диаметр микрококка 0,5 – 1,3 мкм. Шаровидные клетки, соединенные по две, называют *диплококками*, а соединенные в более длинные цепочки – *стрептококками*. Шаровидные клетки в виде гроздьев – *стафилококки*, а сочетание по четыре микрококка, возникающее при делении клетки в двух взаимно перпендикулярных направлениях – *тетракокки*. Если деление происходит в трех взаимно перпендикулярных направлениях, то образуются правильные пакеты по восемь и более клеток. Такие бактерии называют *сарцинами*.

Палочковидные (цилиндрические) бактерии различаются друг от друга размерами. Палочковидные бактерии, образующие в определенных условиях споры, называют *бациллами*. К ним относят наиболее крупные из палочковидных форм. Они могут быть одиночными или соединенными попарно (диплобактерии), цепочками по три-четыре и более клеток (стрептобактерии). Соотношения между длиной и толщиной палочек бывают самыми различными. Длина их клеток колеблется от десятых долей мкм до 10 – 15 мкм.

Извитые бактерии различаются длиной, толщиной и степенью изогнутости. Палочки в виде запятой называют *вибрионами,* с одним или несколькими завитками в виде штопора – *спириллами*, тонкие палочки с многочисленными завитками – *спирохетами*.

Способность бактерий заражать различные виды материалов, в том числе и полимерные, вызывая при этом нарушение их технологических и эксплуатационных свойств, связана с их возможностью быстро адаптироваться и использовать практически любые содержащие азот и углерод источники энергии и питания как органического, так и неорганического происхождения.

1.3. Биологические особенности грибов, повреждающих полимерные материалы

С помощью большого экспериментального материала ученые классифицировали грибы по специфичности их действия к тем или иным субстратам. Различают две группы грибов. К **первой** причисляют неспецифические сапротрофы, встречающиеся на различных

субстратах. К ним относят различные виды родов *Aspergillus, Penicillium, Trichoderma, Alternaria, Fusarium*, причем наиболее часто на разных материалах продуцируют грибы первых трех родов. Источником заражения материалов и изделий этой группой грибов служат почва, органические материалы, воздух, человек, к рукам которого прилипают споры грибов. Родовой и видовой состав грибов и штаммов различают также в зависимости от климатических условий. В средней полосе России биоповреждения вызывают обычно грибы из рода *Penicillium*, и, в меньшей степени, темно окрашенные гифомицеты. Видовой состав аспергиллов в южных и северных районах неодинаков. Штаммы *Penicillium nigricans* различного происхождения неоднородны по температурным показателям. У изолятов этого гриба из южных районов земного шара оптимальный рост выявляют при 25 ºС, а у штаммов из северных районов – при 18 ºС. Бразильский штамм этого гриба лучше всего развивается при 37 ºС [6].

Эти особенности следует учитывать при подборе культур для испытания биоцидов и изучения грибостойкости материалов. В разных условиях деструкцию могут вызывать различные экологические варианты одного и того же вида грибов. Необходимо работать с местными штаммами тех видов, которые входят в международный набор культур-биодеструкторов.

Вторая группа грибов состоит из более или менее специализированных микроорганизмов, которые сформировались в процессе эволюции. К такого рода грибам относят *Cladosporium resinae*, развивающийся на нефти и нефтепродуктах, утилизируя входящие в их состав углеводороды.

Достаточно специфичны *Aspergillus penicillioides* и *A. tonopillus* – биодеструкторы стекла. Разные виды аспергиллов растут на материалах, отличающихся по химическому составу. Борьба со специфическими биодеструкторами более проста, так как при этом известны определенные объекты борьбы. Зная их физиологию, легче подобрать конкретные биоциды (фунгициды).

Фунгицидное разрушение материалов происходит ступенчато. Технологию формирования биохимически стойких покрытий разрабатывают с учетом ступенчатого механизма заселения материалов бактериями и грибами. Сначала поселяются наименее требовательные к влажности виды грибов, а затем более требовательные. Первые в

процессе жизнедеятельности выделяют дополнительную влагу. При последовательном заселении большую роль играют биохимические особенности грибов.

Продукты развития некоторых видов грибов тормозят жизнедеятельность других, сохраняя за собой пространство обитания. При защите объекта химикатами на нем вначале развиваются грибы, способные разрушать вредные вещества, затем растут грибы, использующие в качестве продуктов питания элементы разрушенных химикатов. При изучении формирования микробных ассоциаций на материалах необходимо учитывать физиологические особенности каждого компонента. Активность компонентов отдельных ассоциаций определяет интенсивность разрушения ассоциаций в целом.

Таким образом, очевидна последовательность заселения материалов грибами, поэтому важно подобрать биоциды против грибов, начинающих процесс деструкции. В формировании экологической ситуации, а также состава и соотношения видов грибов на материалах большую роль играет микробный антагонизм. Это может выражаться подавлением одного вида грибов другим; фунгицидным действием; нейтральными взаимоотношениями, когда оба вида штаммов развиваются равномерно, стимулируя действие одного вида на другой.

С учетом способности одних видов грибов вытеснять другие можно разработать способы биологической защиты материалов, используя для этой цели микробы-антагонисты или продукты их жизнедеятельности. Перспективно создание биопрепаратов типа антибиотиков или других метаболитов грибов-антагонистов. Такие препараты, защищая материал, безвредны для окружающей среды. Содержание небольших добавок в близких по составу материалах повышает устойчивость. В качестве добавок рекомендуют использовать оксиды тяжелых металлов, а также присадки, предотвращающие заселение грибами или ингибирующие их вредное воздействие. В качестве метаболитов, вызывающих разрушение, применяют органические кислоты, окислительно-восстановительные и гидролитические ферменты. Грибы родов *Aspergillus* и *Trichoderma* наиболее опасны как разрушители материалов, легко подвергающихся окислению, так как у них высока активность многих оксидоредуктаз. Грибы рода *Pecilomuses* повреждают полимерные материалы с эфирными связями. У них более высокая эстеразная активность. Отмечается и обратная

связь – на активность продуцируемых грибами ферментов оказывают влияние материалы, на которых они развиваются; в присутствии поливинилхлоридных смол медь активирует оксидоредуктазы аспергиллов, а эстеразы, наоборот, снижают свою активность.

Таким образом, вред от грибов заключается не только, а может быть, и не столько в обрастании материалов мицелием, а главным образом в разрушающем действии метаболитов грибов, т. е. судить об эффективности деструктивного действия надо не по оценке обрастания, а по интенсивности выделения метаболитов, способствующих разрушению материалов, и возникающей в результате этого биокоррозии. Это свидетельствует о необходимости разработки новых методов испытания на грибостойкость, основанных на измерении активности метаболитов.

Скорость деструкции зависит от экологии субстратов. Активному росту грибов способствуют отсутствие вентиляции, высокая влажность. С одной стороны, создаются благоприятные условия для развития грибов (экология биодеструктора), с другой – субстрат приводится в состояние большей восприимчивости к плесневению (экология субстрата), т. е. устанавливается связь между экологической обстановкой и плесневением материала. Из этого следует необходимость создания неблагоприятных для грибов условий как важного фактора экологической безопасности по сравнению с использованием химикатов, которые, как правило, портят сам материал и токсичны для окружающей среды.

Во многих работах обнаружено наличие криофильных штаммов *Aspergillus niger*, развивающихся при 5 – 15 ºС и относительной влажности 85 %. Эти штаммы отличаются от стандартных и по морфологии. Они выделены из промерзшей почвы и представляют экологический вариант этого вида. В то же время, как и для обычных грибов этого рода, требуется относительно высокая температура. Это свидетельствует о том, что внутри вида по температурным требованиям могут быть разные штаммы, т. е. лабильность вида проявляется в разных экологических вариантах. Экологическая гетерогенность обнаружена также для грибов рода *Penicillium*. Внутри видов грибов возможны биохимические варианты. Известны штаммы *Cladosporium resinae*, использующие различные компоненты нефти. Штаммы грибов можно различать по степени вызываемой ими деструкции в экс-

тремальных условиях, а также по образованию мутантов под действием биоцидов. Установлено влияние биоцидов на морфологию несовершенных грибов. Биоциды способны изменять физиологические свойства аспергиллов.

Вид у сапротрофных грибов гетерогенен, поэтому штаммы одного и того же вида, выделенные из разных материалов (почвы, органических остатков), могут обладать неодинаковыми физиологическими и биологическими свойствами. Поэтому биоциды надо испытывать на грибах, взятых с конкретных материалов, иначе будут выявлены не виновники разрушения, а их сапротрофные аналоги. Биоциды, эффективные против грибов, указанных в стандартах, могут быть неспособны защищать материалы вследствие специфичности грибов, часто не входящих в состав гостированных видов. В начале исследования надо испытывать биоциды на биоразрушение данного конкретного материала, затем отбирать наиболее эффективные биоциды и испытывать их для защиты самого материала от биоразрушения. При выборе биоцидов необходимо учитывать их эффективность против тех разрушителей, которые или начинали процесс, или преобладают в том комплексе, который изолируется из материала, подлежащего защите.

1.4. Воздействие микроорганизмов на отдельные виды полимерных материалов

Полимерные материалы имеют различную биостойкость в зависимости от химической структуры макромолекулы, длины полимерной цепи, наличия боковых разветвлений и др. Общим правилом является повышение устойчивости полимеров к микробиологическому повреждению по мере роста длины цепи макромолекул. При прочих равных условиях линейные карбоцепные полимеры менее биостойки, чем разветвленные или гетероцепные.

Установлено, например, что микробиологическая стойкость полимерных материалов находится в прямой зависимости от молекулярной массы самого полимера и понижается из-за присутствия в материале низкомолекулярных фрагментов. Такой же эффект наблюдается в результате старения полимеров под действием света и тепла.

Переход от аморфной структуры полимера к кристаллической повышает его биостойкость.

К числу полимерных материалов, обладающих повышенной стойкостью к повреждению плесневыми грибами, относят полиэтилен, полипропилен, полистирол, поливинилхлорид (жесткий), полиамид, полиэтилентерефталат. Менее грибостойки поливинилацетат, поливиниловый спирт, хлорсульфированный полиэтилен и др.

Для прогнозирования микробиологической стойкости полимерных материалов нельзя руководствоваться только сведениями о грибостойкости чистой полимерной смолы, необходимо иметь данные и о других компонентах, входящих в состав полимеров (стабилизаторах, модификаторах, остатках эмульгаторов, наполнителях, пигментах, пластификаторах и т. д.).

Важный компонент полимерных материалов – пластификаторы, в качестве которых наиболее часто используют сложные эфиры дикарбоновых и поликарбоновых алифатических и ароматических кислот. Содержание пластификатора может достигать 30 – 50 % от массы пластика, поэтому от его биостойкости в большой мере зависит и биостойкость всего материала. Установлена зависимость биостойкости органических пластификаторов от длины и пространственной конфигурации углеродной цепи: наиболее устойчивы эфиры ортофталевой кислоты, наименее устойчивы производные пара-, мета-, изо-, терефталевых кислот. Пластификаторы типа эфиров гидролизуются до оснований и кислот с короткими цепочками и утилизируются микроорганизмами, причем этот процесс может происходить при сравнительно невысокой относительной влажности воздуха (50 %) и температуре 20 °С. Используя пластификаторы и наполнители в качестве источника питания, микроорганизмы ускоряют процесс старения пластмасс. При сравнении стойкости к поражению плесневыми грибами наиболее распространенных пластификаторов – эфиров фталевой и адипиновой кислот – выявлено, что более стойкими являются эфиры фталевой (ароматической) кислоты, чем эфиры адипиновой (алифатической дикарбоновой) кислоты. Низкой грибостойкостью обладают эфиры другой алифатической кислоты – себациновой.

Важный компонент полимерных материалов – наполнители. Наполнители представляют собой в основном инертные твердые вещества, которые вводят в состав полимерных материалов для регулирования механических свойств и других целей. Введение наполнителя также снижает стоимость изделий из полимерных материалов, повы-

шает их прочность, электрические и другие свойства. Органические наполнители (древесная мука, хлопковые волокна, бумага и т. д.), представляющие собой питательные субстраты для микроорганизмов, понижают грибостойкость полимерных композиций, в то время как наполнители неорганического происхождения (асбест, стекловолокно, кварцевая пыль, каолин) повышают биостойкость. Однако при условии высокой устойчивости к плесневым грибам связующего, хорошо пропитывающего наполнитель органического происхождения, грибостойкость полимерного материала может быть достаточно высокой. Важно добиться, чтобы технологический цикл подготовки смеси обеспечивал наиболее полную пропитку наполнителя смолой. Иногда этого добиваются, осуществляя процесс смешения при вакуумировании. Недопустима механическая обработка готовых деталей из пластмасс, содержащих небиостойкие наполнители, без соответствующей защиты мест обработки грибостойким лаковым покрытием.

Динамика повреждения полимерных материалов зависит не только от химического строения, но и от их физической структуры. Мицелий грибов может использовать для своего развития очень тонкие трещины, поры материала, образующиеся на границе раздела фаз и поверхностей в материале. Так, например, при повреждении этиленвинилацетатных сополимеров гифы грибов развивались на границе между полимерным материалом и зернами крахмала. При этом повреждение усиливалось с увеличением содержания в материале винилацетата и стимулировалось при добавлении крахмала в качестве наполнителя.

Микробиологическая стойкость *полиэтилена* характеризуется общим для всех алканов свойством: чем выше молекулярная масса, тем лучше биостойкость материала. Поражение полиэтилена носит обычно поверхностный характер, и наиболее сильно поражается полимер с молекулярной массой менее 25 тыс. Полиэтилен высокой плотности более биостоек, чем низкой. При эксплуатации в почве в условиях умеренного климата изделия из полиэтилена можно считать стойкими к микробиологическим повреждениям до восьми лет. В тропических условиях срок эксплуатации снижается. Поверхность полиэтилена, обросшего плесенью, становится шероховатой и покрывается мозаичными черно-коричневыми пятнами [7]. Чаще всего на полиэтилене развиваются грибы *Aspergillus flavus. A. versicolor, Penicillium funiculosum* и *P. brevicompactum* [8].

Полистирол – карбоцепный, термопластичный полимер, полученный полимеризацией мономерного стирола в присутствии различных инициаторов (гидроперекисей, азотосоединений, перекисей). Полистирол стоек к действию микроорганизмов. Воздействие смеси штаммов плесневых грибов в течение восьми месяцев не приводит к поражению полистирола. Испытания биостойкости пленок из полистирола показали, что микроорганизмы не изменяли внешнего вида и свойств материала.

Лабораторные исследования микробиологической стойкости пленочных материалов (полиамид-6, полиамид-6,6) на питательной среде оптимального состава показали, что указанные материалы не биостойки. На всех образцах обнаруживается поверхностное и сквозное разрушение полимеров. Полиамид-12 показал высокую стойкость к плесневым грибам. Воздействие некоторых штаммов грибов на полиамидные пленочные материалы (пленка ПК-4) приводит к понижению прочности до 80 %.

Биостойкость пластифицированного *поливинилхлорида* в значительной степени зависит от биостойкости примененных пластификаторов, стабилизаторов и пр. Пленочный пластифицированный поливинилхлорид в результате воздействия микроорганизмов теряет прочность, что сопровождается также убылью массы и увеличением жесткости. Местами наблюдается окрашивание пленки в различные цвета (красный, оранжевый, розовый), снижается светопропускание. Многочисленные исследования указывают на связь наблюдаемых изменений с недостаточной биостойкостью пластификаторов, а также со скоростью их миграции из объема пластиката. Жесткий поливинилхлорид обладает более высокой биостойкостью по отношению к бактериям и плесневым грибам. Трубы из жесткого поливинилхлорида после восьмилетнего испытания в почве не снизили заметно своих физико-механических свойств, хотя сам материал был способен поддерживать рост грибов [7]. Установлено, что ПВХ-пластики, пластифицированные диоктилфталатами и бутадиенакрилонитрилом, не поражаются грибами. Дибутилсебацинаты, алифатические эфиры, адипиновая и сукциновая кислоты снижают грибостойкость ПВХ. На этих пластификаторах развиваются *Aspergillus flavus, A. terreus, A. ustus, Paecilomyces variotii, Penicillium funiculosum* и некоторые виды рода *Trichoderma*; *Aspergillus versicolor* и *A. niger* эфиры не поражают.

На других полимерных материалах, содержащих в качестве пластификаторов диоктиладипат, бензилбутилфталат, дибутилфталат и диизобутилфталат, развиваются грибы следующих родов: *Alternaria, Chaetomium, Fusarium, Mortierella, Rhizopuz, Trichoderma и Verticillium*.

Тетрагидрофурфуриловые олеаты, триэтиленгликоль, диоктилфталаты, дибутилфталаты, ароматические кислоты, алкилы фосфорной и фталевой кислот составляют группу пластификаторов, стойких к биоповреждению. Большинство грибов не способно усваивать малеиновую, пеларгоновую и оксолиновую кислоты, которые применяются в качестве пластификаторов. Пластификаторы типа эфиров гидролизуются до оснований и кислот с короткими цепочками и утилизируются грибами. Этот процесс может происходить при относительной влажности воздуха, равной 50 %, и температуре 20 ºС.

Что касается характера повреждения *резины* некоторыми микроскопическими грибами, то установлено, что мицелий грибов рода *Stemphylium* проникает глубоко в материал. *Aspergillus niger* и представители родов *Cephalosporium* и *Fusarium* – на меньшую глубину. С образцов резины, проходившей длительные испытания на воздействие климата и микофлоры тропиков, чаще всего выделяют грибы, относящиеся к родам *Alternaria, Aspergillus, Penicillium* и *Trichoderma.*

В условиях эксплуатации на резиновых кольцах и прокладках трубопроводов, которые предназначены для уплотнения стыков, находящихся в контакте с водой, сточными водами и почвой, преимущественно развиваются актиномицеты и тиобациллы. Стиренобутадиеновая, нитратная, непреновая и натуральная резины используются также аэробными бактериями в качестве источника углерода. Составляющие компоненты резины увеличивают ее подверженность воздействию микроорганизмов.

С пораженного латекса и резины выделены серные бактерии и актиномицеты рода *Streptomyces*. Наиболее подвержены воздействию микроорганизмов серосодержащие резины. Установлено, что натуральная резина поражается представителями рода *Streptomyces* в течение двух-трех месяцев, а синтетическая не обнаруживает признаков биоповреждения. Смесь натурального и синтетического каучуков не подвергается коррозии, если содержание первого компонента не превышает 50 %.

Установлено также, что микроорганизмы практически не повреждают резину до тех пор, пока в процессе ее старения не произойдет (в результате окисления) разрыва длинных цепочек полимера на более короткие [8].

Изучение микробиологической стойкости одного из *поликарбонатов* показало, что на поверхности материала способны расти плесневые грибы в условиях относительной влажности 100 % при температуре +30 °С. Пленка из поликарбоната также не вполне грибостойка, что следует учитывать при применении ее в электрической аппаратуре, в медицинских целях, для упаковки. Поликарбонаты устойчивы к воздействию бактерий [7].

Такие пластики, как *поливинилацетаты, поливинилбутираты* и *полиметилметакрилаты*, грибостойки, их стойкость определяется природой пластификатора [8].

В работе В. Ф. Смирнова [10] выявлены наиболее активные биодеграданты полимерных композиций на основе хитозана, акрилонитрила, метилакрилата, поливинилхлорида, поливинилового спирта, крахмала и опилок. Ими оказались следующие грибы: *Aspergillus niger, A. terreus, Penicillum cyclopium, P. chrysogenum,* и *Trichoderma viride*.

Синтетические полимерные материалы на основе *полиуретанов* характеризуются меньшей стойкостью к действию грибов по сравнению с полиолефинами.

Выявлено, что полиуретаны с простой эфирной связью поражались грибами сильнее, чем полиуретаны со сложной эфирной связью. Присутствие простой эфирной связи облегчает расщепление и использование полимера. Установлено также, что расщеплению подвергаются соединения, у которых между эфирными связями находится длинная углеродная цепочка. Наличие трех метильных групп, расположенных по соседству, также увеличивает поражение полиуретанов микроскопическими грибами [7].

При испытании степени стойкости к биокоррозии полиуретанов, используемых для обшивки топливных танков, отмечено, что наиболее интенсивно полиуретан поражается *Cladosporium resinae* (штамм GDFW-8) и *Pseudomonas aeruginosa* (штамм GDFW-B10).

Установлено, что при инфицировании контрольных образцов полиуретановой пены чистыми и смешанными культурами грибов *Aspergillus flavus, A. niger, Paecilomyces species* и *Rhizopuz sp.,* выде-

ленных с поврежденного полиуретана, только *Rhizopuz sp.* развивается на контрольных образцах после семисуточной инкубации. В отличие от него *Aspergillus flavus* не развивается даже после 28-суточного инкубационного периода [8].

В работе С. Н. Богатовой [9] на образцах отвержденной эпоксидной смолы обнаружено пять родов грибов, способных расти на их поверхности при эксплуатации в свиноводческом помещении: *Aspergillus, Penicillum, Mucor, Chaetomium*; шесть родов грибов – при эксплуатации в птицеводческом помещении: *Aspergillus, Penicillum, Alternaria, Cladosporium, Mucor, Trichoderma* и восемь родов грибов – при эксплуатации в помещении для хранения картофеля: *Aspergillus, Penicillum, Fusarium, Cladosporium, Trichoderma, Verticillium, Mucor.* В качестве примера авторы приводят результаты исследований биостойкости отвержденной эпоксидной смолы после набора прочности и выдерживания в воздушно-сухих условиях в течение трех, девяти и 12 месяцев методами 1 и 3 по ГОСТ 9.049-91 (табл. 1).

Таблица 1

Результаты исследований биостойкости отвержденной эпоксидной смолы

Длительность выдерживания	**Метод 1**	**Метод 3**	**Результат**
После набора прочности	2	5	Грибостоек
После выдерживания в воздушно-сухих условиях			
В течение трех месяцев	2	5	Грибостоек
В течение девяти месяцев	4	5	Негрибостоек
В течение 12 месяцев	4	5	Негрибостоек

Результаты проведенных экспериментов подтвердили, что даже содержащиеся в воздухе помещений споры микроскопических грибов могут заселяться на поверхности эпоксидных покрытий и использовать их или имеющиеся на них загрязнения в качестве питательного субстрата. Это еще раз подтверждает необходимость избирательного подхода при выборе строительных материалов и защитных покрытий в зависимости от конкретных условий эксплуатации и проведения профилактических мероприятий, предотвращающих или сводящих к минимуму вероятность заселения на них микроскопических организмов.

Помимо структуры и состава пластмасс на их биостойкость в значительной мере влияют условия окружающей среды: высокая относительная влажность воздуха, повышенная температура, перепад

дневных и ночных температур. Конденсация водяных паров и скопление влаги на поверхности материала способствуют росту микроорганизмов. Некоторые полимерные материалы уже только под влиянием значительного влагосодержания изменяют свои свойства. К этому добавляется химическая коррозия, вызываемая продуктами обмена веществ микроорганизмов, следствием которой становится ухудшение свойств и снижение качества изделий. Повреждения иногда носят поверхностный характер и проявляются только в обрастании мицелием, который может быть удален, а следовательно, не окажет заметного влияния на рабочие характеристики материала или изделия в целом. В других случаях биоповреждения могут носить более глубокий характер, когда наряду с изменением внешнего вида преобразуются физико-химические, физико-механические и другие свойства материалов: вязкость, прочность, твердость, электроизоляционные и др. Стремясь обеспечить биостойкость полимеров в течение заданного ресурса, в отдельных случаях приходится решать и обратную задачу – ускорение биодеструкции отработанных полимерных материалов. С целью ускорения биоразрушаемости полимерных материалов в них намеренно вводят хорошо биоразрушаемые органические наполнители. Так, например, введение крахмала в полиэтилен приводит к тому, что этот полимер начинает разрушаться.

1.5. Биоповреждение лакокрасочных материалов и покрытий плесневыми грибами

Лакокрасочные материалы (ЛКМ) и покрытия (ЛКП), применяемые в условиях, благоприятных для развития и роста плесневых грибов, бактерий и других микроорганизмов, могут подвергаться микробиологическим повреждениям. Характерные признаки их проявления – серо-зеленые, темные и другие окрашенные пятна и налеты плесени и бактериальной слизи на окрашенных поверхностях в местах с повышенной влажностью, а также внешние наиболее заметные повреждения: растрескивание, шелушение и отслаивание покрытий, образование бугров и отверстий.

Биоповреждение лакокрасочных покрытий обычно сочетается с повреждающим воздействием на них других факторов внешней среды – атмосферной влаги с растворенными в ней агрессивными химически-

ми веществами, воздействием солнечного света, повышенных температур и прочих явлений, вызывающих старение материалов. Климатические условия, в которых находятся материалы, приборы и оборудование, и условия эксплуатации определяют физико-химические факторы, влияющие на развитие тех микроорганизмов, которые осуществляют биоповреждение. Большое значение в возникновении очагов биоповреждения имеют экологические факторы, химический состав компонентов полимерных материалов, степень загрязнения окружающей среды и т. д. Эти же условия определяют флористический состав микроорганизмов, типичный для той или иной группы материалов. Процессы старения и биоповреждения могут протекать одновременно и не совпадать по времени, но в большинстве случаев они взаимно дополняют друг друга, ускоряя и усугубляя разрушение материалов и ухудшая их эксплуатационно-технические и декоративные свойства [8; 10; 11].

Большую роль в процессах биокоррозии лакокрасочных покрытий играют микроскопические грибы, а также углеводородокисляющие и сульфатредуцирующие микроорганизмы. Грибы, разрушающие полимеры, продуцируют комплекс аминокислот, органических кислот и ряд ферментов, воздействующих на субстрат; особенно активны по отношению к полимерным материалам целлюлозоразрушающие грибы. Бактериальные поражения встречаются реже и проявляются в виде бесцветного или окрашенного слизистого налета. Среди микроорганизмов, повреждающих ЛКП, часто встречаются грибы родов *Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Trichoderma, Alternaria, Cephalosponum, Pullularia,* бактерии родов *Pseudomonas, Flavobacterium*. Видовой состав грибов, повреждающих ЛКП, специфичен для различных почвенно-климатических зон. Он формируется из видов, составляющих сообщество, характерное для почв той или иной зоны.

Развитие грибов на ЛКП происходит либо за счет использования ими компонентов, входящих в состав покрытия, либо за счет веществ, загрязняющих поверхность ЛКП. ЛКП разрушаются в результате механического воздействия мицелия плесневых грибов на покрытие и под влиянием метаболитов, выделяемых микромицетами в процессе их жизнедеятельности (органических кислот, аминокислот, ферментов и др.). Последние вызывают у ЛКП снижение физико-механических по-

казателей, таких как модуль упругости, напряжения при растяжении и относительные удлинения при разрыве. Биоповреждения ЛКП чаще встречаются в условиях влажного тропического и субтропического климата, а также в сооружениях и помещениях с повышенной влажностью и температурой (предприятия мясомолочной и консервной промышленности, животноводческие фермы, бассейны, бани и т. п.). Здесь они могут причинять наибольший ущерб. Однако и в условиях умеренного климата, в особенности при нарушении правил эксплуатации, микробиологические повреждения могут причинять значительный вред лакокрасочным покрытиям. Большую опасность могут представлять плесневые грибы. Трещины, отслаивание, вспучивание ЛКП могут вызывать микроорганизмы, находящиеся на поверхности или под пленкой ЛКП. Рост грибов и их развитие под пленкой сопровождается газообразованием и повышением давления, достаточным для отслаивания и вспучивания ЛКП. В районах с сухим климатом такие повреждения встречаются редко. Бактерии реже причиняют заметный вред ЛКП, чем микроскопические грибы. Однако в отдельных случаях наблюдается именно бактериальное поражение покрытий, характеризующееся появлением на окрашенных поверхностях специфически прозрачного или окрашенного слизистого налета [9].

На биостойкость оказывают влияние и другие компоненты лаков и красок (растворители, разбавители, стабилизаторы, отвердители и др.), а также и материал, на который наносится покрытие – подложка. Так, покрытия на древесине сохраняются лучше, чем на металле или силикатных строительных материалах. На черных металлах они бывают часто менее биостойкими, чем на цветных.

Биостойкость ЛКП также зависит и от гидрофобности покрытия и распределения конденсата влаги на поверхности материала. Чем выше гидрофобность покрытия, тем выше его грибостойкость.

Следует отличать грибостойкость ЛКМ от грибостойкости системы ЛКП. Имеют место случаи, когда устойчивый к воздействию микромицетов ЛКМ в системе ЛКП повреждался плесневыми грибами и наоборот – негрибостойкий ЛКМ проявлял биостойкие свойства. Это, очевидно, связано с тем, что грибостойкость системы ЛКП зависит от состава всех ее компонентов – подложки, грунтовки, покрытия. Поэтому для рекомендаций по эксплуатации ЛКП с точки зрения их

грибостойкости необходимо исследовать биостойкость не только отдельных компонентов системы ЛКП, но и всей системы в целом.

Пленкообразующие вещества в основном определяют биостойкость ЛКМ и защитных покрытий на их основе. Решающим фактором здесь служит, с одной стороны, химическое строение полимерного пленкообразователя, и с другой – его физические свойства как в неотвержденном, так и в отвержденном состоянии (набухаемость, влагоемкость, твердость, гладкость поверхности, пористость и др.).

Установлена связь между химическим строением применяемых пленкообразователей и скоростью роста ряда распространенных штаммов грибов.

Из числа исследованных пленкообразующих веществ лучшую биостойкость имеют синтетические пленкообразующие полимеры. Грибостойкость этих покрытий уменьшается в следующем ряду: эпоксидные, полиуретановые, меламиноалкидные, кремнийорганические, пентафталевые. Повышению грибостойкости способствуют увеличение скорости отверждения пленкообразующего вещества, уменьшение водопоглощения, шероховатости и пористости пленки. Гладкие, блестящие и ровные пленки более биостойки из-за того, что на них труднее адсорбируются споры грибов и они меньше загрязняются [6].

Среди природных пленкообразователей наиболее распространены высыхающие масла растительного происхождения (льняное, хлопковое, конопляное, подсолнечное, таловое и др.). Они обладают сравнительно невысокой грибостойкостью, так как являются хорошим питательным субстратом для микроорганизмов. Учитывая связь скорости высыхания масел с их грибостойкостью, к лучшим маслам относят быстросохнущее тунговое масло, содержащее глицериды жирных кислот с несколькими сопряженными двойными связями. Менее биостойкими считаются медленно высыхающие масла такие, как льняное, соевое, хлопковое и другие, представляющие собой глицериды жирных кислот с двойными сопряженными связями.

Применяемые в качестве пленкообразователей битумы имеют недостаточную биостойкость. Для повышения биостойкости в состав битумных лаков и битумных защитных покрытий добавляют фенольные, малеиновые и другие синтетические смолы.

Термопластичные синтетические смолы, используемые для производства быстросохнущих лаков, образуют твердые покрытия, как правило, с высокой биостойкостью. К биостойким смолам относят инденовую и кумароновую смолы, хлорированный каучук, полистирол и его сополимеры с бутадиеном, сополимер винилхлорида с винилацетатом и др.

Широко распространенное полимерное связующее – поливинилацетатная дисперсия. Изготавливаемые на ее основе краски, покрытия, мастики, грунтовки и другие материалы негрибостойки. Непластифицированные дисперсии поражаются грибами сильнее, чем пластифицированные. Негрибостойки не только покрытия из поливинилацетатных красок, но и сами жидкие краски, которые в процессе хранения поражаются плесневыми грибами и бактериями, при этом снижается их вязкость, образуются газообразные продукты.

Термореактивные синтетические смолы – глифталевые, пентафталевые, эпоксидные, силиконовые, мочевиноформальдегидные и другие, включаемые в состав лаков и эмалей горячего и холодного отверждения, обладают высокой биостойкостью, причем некоторые из них отличаются высокой твердостью, гладкостью и малой проницаемостью, что способствует росту биостойкости.

Водорастворимые пленкообразующие вещества, в качестве которых используют производные целлюлозы, белковые соединения (декстрин, камеди, желатин, альбумин, казеин и др.), повреждаются плесневыми грибами. Их пониженная биостойкость связана с присущей им гигроскопичностью, способностью к набуханию. Во влажных условиях нередко встречаются случаи повреждения казеиновых, декстриновых и других водоэмульсионных красок микроскопическими грибами.

Из природных смол, используемых в качестве пленкообразователей ЛКМ, повышенной стойкостью к микробиологическим повреждениям обладают шеллак, канифоль и копалы. Стойкость канифоли к воздействию микромицетов связывают с присутствием в ее составе терпенов, обладающих фунгицидными свойствами, а также с образованием кислых продуктов в пленке в процессе формирования защитного покрытия.

Применяемые в качестве пленкообразователей битумы имеют недостаточную биостойкость. Для повышения биостойкости в состав

битумных лаков и битумных защитных покрытий добавляют фенольные, малеиновые и другие синтетические смолы.

Термопластичные синтетические смолы, используемые для производства быстросохнущих лаков, образуют твердые покрытия, как правило, с высокой биостойкостью. К биостойким смолам относят инденовую и кумаровую смолы, хлорированный каучук, полистирол и его сополимеры с бутадиеном, сополимер винилхлорида с винилацетатом и др.

В отличие от органических водорастворимых пленкообразователей неорганические пленкообразователи обладают высокой биостойкостью. Примером таких пленкообразователей служит жидкое стекло, применяемое в производстве силикатных красок.

Второй важный компонент, от которого зависит биостойкость ЛКП, – пигмент. Пигменты придают краске нужный цвет и кроющую способность, регулируют вязкость, улучшают стойкость к солнечной радиации и водостойкость покрытия. Благодаря повышенной стойкости частицы пигмента механически затрудняют рост и развитие мицелия. Они также могут оказать токсическое воздействие на плесневые грибы и другие микроорганизмы.

Оксид цинка, оксид меди (I), метаборат бария и некоторые другие пигменты обладают фунгицидными свойствами и поэтому повышают биостойкость содержащих их ЛКП. Вместе с тем такие пигменты, как мел, желтый крон, диоксид титана, алюминиевая пудра, оксид хрома, сажа, сами не обладают биоцидными свойствами, однако масляные краски на их основе имеют повышенную грибостойкость. Может быть и совершенно обратное явление, когда пигмент токсичен, но при введении в композицию это свойство частично или полностью теряет. Меньшей грибостойкостью отличаются масляные краски с пигментами окислов сурьмы, свинца, литопоном (смесь ZnS и $BaSO_4$) в виде тонкого порошка. Диоксид титана и титанат свинца, введенные в состав ЛКМ, дают покрытия, поддающиеся поражению плесневыми грибами. Окись цинка с примесью окиси свинца придает защитной пленке ЛКП лучшую биостойкость, чем окись цинка, смешанная с карбонатом свинца.

Ряд неорганических пигментов и наполнителей, например тальк, графит, слюда-мусковит, снижают стойкость ЛКП к повреждению микроорганизмами.

В качестве биоцидов для лакокрасочных покрытий общего назначения, служащих для наружного и внутреннего применения, можно использовать следующие соединения:

1) неорганические пигменты – оксид цинка, оксид меди (I), метаборат бария и др.;

2) органические фунгициды – 8-оксихинолят меди (придает лакокрасочным покрытиям окраску от желто-зеленой до коричневой, может применяться в пищевой промышленности из-за низкой токсичности), салициланилид, бромтан, n-нитрофенол, тетра- и пентахлорфенол, фталан (трихлорметилтиофталимид) и др.;

3) металлорганические фунгициды – оловоорганические (гексабутилдистанноксан, трибутилоловоакрилат), мышьякорганические (хлорфеноксарсин), ртутьорганические (фенилмеркуролеат и др.), последние из-за высокой летучести и токсичности для человека имеют ограниченное применение.

За рубежом используют самодезинфицирующиеся краски для отделки помещений лечебных и детских учреждений, на предприятиях пищевой промышленности, на транспорте, в других общественных местах, т. е. там, где потенциально существует повышенная опасность возникновения и распространения инфекционных заболеваний. Бактерицидные и фунгицидные свойства таких красок, сохраняющиеся более двух лет, обеспечиваются введением в их состав в качестве биоцидного препарата 2-, 3-, 5-, 6-тетрахлор-4-(метилсульфонил) пиридина [7].

1.6. Методы защиты полимерных материалов от биоповреждений

К основным методам защиты полимерных материалов от разрушения микроорганизмами относят:

- механическое удаление загрязнений;

- поддержание правильного санитарно-гигиенического и температурно-влажностного режимов;

- физические методы (бактериальные фильтры, электромагнитное и радиоактивное облучение, ультрафиолет, ультразвук, электрохимическую защиту);

- гидрофобизирование поверхности;

- предотвращение проникновения микроорганизмов к объекту биоповреждений (герметизацию, очистку воздуха, вакуум, биоцидную газовую среду);

- удаление одного из элементов, необходимых для роста микробов (использование хелатных соединений железа и магния, связывающих один из металлов, нужных для роста микроорганизмов);

- биологическую защиту (антагонизм, конкуренцию микроорганизмов, отрицательный хемотаксис грибов и бактерий);

- создание материалов с заданными свойствами по их биостойкости (один или несколько компонентов материала обладают биоцидными свойствами);

- химические средства защиты (биоциды).

Применение биоцидных соединений – один из наиболее эффективных и распространенных способов защиты. Биоциды, использующиеся для уничтожения микроорганизмов, можно разделить на две группы:

- фунгициды, применяемые для защиты материалов и изделий от повреждения грибами (главным образом плесневыми);

- бактерициды – для защиты от гнилостных, слизеобразующих, кислотообразующих и других бактерий.

Защиту полимерных материалов и покрытий осуществляют введением в их состав антимикробных и антигрибковых добавок. В качестве биоцидов и фунгицидов используют соединения разных классов: галогенсодержащие, металлоорганические, сульфо- и нитросоединения. При выборе фунгицидов и биоцидов полимерного назначения необходимо учитывать то, что они должны обладать широким спектром антибактериального и антигрибкового действия и низкой токсичностью для человека. Эффективность их применения зависит также от совместимости с компонентами связующих, они не должны влиять на цвет покрытий, реологические свойства, режим сушки, должны быть стойкими к воздействию света, тепла, гидролизующих веществ, не выщелачиваться, не иметь запаха, не образовывать пятен на поверхностях, а также быть экономически эффективными.

Механизм действий фунгицидов обусловлен их способностью проникать в клетку гриба или накапливаться на ее поверхности, управляя тем или иным жизненно важным процессом жизнедеятельности микроорганизмов, и в конечном счете ингибировать их ферментные системы.

Металлоорганические фунгициды, содержащие атомы тяжелых металлов, вызывают у микроорганизмов снижение активности дыхательных ферментов, которые в своем составе имеют сульфгидрильные группы. Органические фунгициды, содержащие атомы меди, свинца и олова, снижают активность дыхательных ферментов, в каталитическом центре которых находится сукцинатдегидрогиназа, а также активность таких дыхательных ферментов, как изоцитратдегидрогеназа, каталаза и пероксидаза, в результате чего у грибов тормозится синтез органических кислот.

Токсичность неорганических фунгицидов определяется в основном взаимодействием катионов тяжелых металлов (Hg, Co, Pb, Ag) с функциональными группами полипептидов, что приводит к денатурации белков и нарушению структуры белковой молекулы.

Токсичное действие на микроорганизмы оказывают антибиотики (стрептомицин, биомицин, террамицин). Оно проявляется в торможении этими соединениями биосинтеза белка. Применяющиеся в качестве фунгицидов полиеновые антибиотики (нистатин, фунгимицин) изменяют структуру мембран, что влечет за собой разрушение клеток и освобождение белка.

Существенный недостаток вводимых в полимерные покрытия биоцидов – сравнительно короткий срок их действия и загрязнение биосферы из-за низкой молекулярной массы этих веществ. Устранение этих недостатков возможно при использовании в полимерных покрытиях высокомолекулярных биоцидов, в которых активное токсическое начало представлено функциональными группами, химически связанными с основными макромолекулярными цепями. В присутствии влаги и ферментов, выделяемых микроорганизмами, функциональные группировки расщепляются и образуют токсичные для микроорганизмов соединения.

Наиболее эффективны составы комплексного действия (в том числе ПАВ, ингибиторы коррозии), которые обладают фунгицидными свойствами. К их числу можно отнести ароматические альдегиды и иодаллилуротропин, полиэтиленимин, дихлораминохлориминохлорметан, кетимины, алкилфосфиновые кислоты и эфиры, содержащие связь C–P–(N). К эффективным бактерицидам, снижающим скорость биокоррозии стали в присутствии сульфатредуцирующих бактерий, относят сульфаммониевые соли, сульфаты алифатических и ароматических аминопроизводных.

Многие биоциды на основе органортутных соединений, несмотря на их большое практическое значение для защиты покрытий, не используются из-за вредного воздействия на организм человека и загрязнения окружающей среды, так же, как и соли свинца. Биоциды на основе циклических соединений можно применять в малых концентрациях (0,05 – 0,5 %). Высокими биоцидными свойствами обладают органические соединения мышьяка и сурьмы. К распространенным биоцидам относят также сорбиновую, бензойную, дихлоризоциануровую, амидхлоруксусную кислоты и др. [8]. Высокой токсичностью по отношению к микроорганизмам обладают оловоорганические соединения на основе трибутилолова, а также при сочетании их с соединениями бора. Многие биоциды избирательно воздействуют на определенные микроорганизмы в зависимости от условий среды.

Высокий эффект биостойкости достигается при смешении сернокислой меди и нитрофенолов в соотношении 1:1 при суммарной концентрации 1 г/л, который объясняется синергетическим эффектом. Для защиты водоразбавляемых лакокрасочных материалов используют соединения трибутилолова в комбинации с четвертичными аммониевыми основаниями, а также эмульгирующими агентами неионногенного типа. Фунгицидные соединения широко применяют зарубежные фирмы для стабилизации водных синтетических дисперсий и полимерных композиций на органических растворителях от разрушения микрофлорой. Многие из указанных неорганических и органических фунгицидов используют в составах необрастающих красок для судов и других подводных сооружений. Много внимания уделяется получению и изучению полимерных биоцидов, которые характеризуются меньшими летучестью, растворимостью в воде, токсичностью для окружающей среды, в частности полимерные биоциды на основе трифенилгидроксида олова, пентахлорфенола, сульфамидов и акрилатов. Разработана биоцидная композиция на основе полиорганосилаксанов, модифицированных боратами для защиты строительных материалов от поражения грибами [6].

Положительные результаты по предотвращению биоповреждений получены при включении в композицию резины добавок, обладающих фунгицидным действием: дибутилдитиокарбамат свинца, меркаптобензотиазол и его цинковая соль, бензотиазолдисульфид, тетра-

метилтиурамдисульфид, эфиры дитиокарбаминовой кислоты, цинковая и никелевая соли салициланилида, метилнафтол и некоторые изометиловые производные тиофена. Присутствие в резине солей меди также защищает ее от воздействия микроорганизмов. В качестве фунгицидов применяют диметилдитиокарбамат цинка и хлорирование резины, введение тетраметилтиурамдисульфида защищает резину от биоповреждения несколько слабее [8].

Контрольные вопросы

1. Что такое биологическое повреждение материала?
2. Что такое биологический фактор?
3. Какие существуют виды воздействия микроорганизмов на полимерные материалы?
4. В чем опасность биоповреждения полимерных материалов?
5. Как можно классифицировать грибы по специфичности их действия на различные материалы?
6. Как структура полимерного материала влияет на его биостойкость?
7. Какова микробиологическая стойкость компонентов, входящих в состав полимерных материалов?
8. Какова микробиологическая стойкость полиэтилена, полистирола, поливинилхлорида, полиуретана?
9. Каковы микробиологические признаки поражения лакокрасочных покрытий?
10. Какие факторы влияют на биологическое повреждение лакокрасочных покрытий?
11. Какую роль в биокоррозии лакокрасочных покрытий играют микроскопические грибы?
12. Какое влияние оказывают пленкообразующие вещества на биостойкость лакокрасочных покрытий?
13. Какие показатели лакокрасочного покрытия способствуют повышению его грибостойкости?
14. Зависит ли биостойкость лакокрасочного покрытия от природы и свойств пигмента, наполнителя?

15. Какие бывают методы защиты материалов от воздействия микроорганизмов?

16. Что такое биоцидные соединения?

17. Каков механизм действия фунгицидов на микроскопические грибы?

18. Каков механизм действия высокомолекулярных биоцидов?

2. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ИХ КОМПОНЕНТОВ НА СТОЙКОСТЬ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

Испытания полимерных материалов на стойкость к воздействию микроорганизмов проводят как в лабораторных, так и в натурных условиях.

2.1. Метод оценки полимерных материалов на стойкость к воздействию плесневых грибов в натурных условиях

Проведение испытаний в натурных условиях позволяет получить наиболее достоверные данные о биостойкости материалов [12]. Испытания проводят в естественной среде на испытательных климатических станциях [13].

Сущность метода заключается в выдерживании образцов в условиях естественного заражения микроорганизмами и определении микробиологической стойкости по степени развития микроорганизмов и (или) изменению показателей свойств материалов или параметров. Испытания образцов проводят на микологических площадках, размещенных на наземных климатических испытательных станциях [13], расположенных в теплом влажном климатическом районе. Испытания образцов могут проводиться в других климатических районах, если этого требует программа испытаний.

Климатические испытательные станции предназначены для проведения испытаний образцов в атмосферных условиях любых климатических районов с целями определения стойкости неметаллических образцов к климатическому старению; установления сроков сохране-

ния свойств материалов и сохраняемости изделий, а также прогнозирования их показателей; установления климатической стойкости образцов в условиях, имитирующих эксплуатационные в части воздействия климатических факторов; установления микробиологической стойкости образцов. В зависимости от программы испытаний станции имеют стенды для экспонирования образцов на открытых площадках и стеллажи для экспонирования образцов под навесом и в хранилищах. Микологический стенд для испытания образцов на микробиологическую стойкость приведен в прил. 4.

2.1.1. Отбор образцов

Оценку микробиологической стойкости материалов по степени развития микроорганизмов проводят на образцах, имеющих следующие размеры и форму: материалы, выпускаемые в виде листов и пластин – в виде круга диаметром 50 мм или пластины размером 50 × 50 мм; лакокрасочные материалы – пластины размером 60 × 40 мм или 50 × 50 мм с нанесением с обеих сторон покрытия в соответствии с технологией, установленной в нормативно-технической документации.

Края образцов защищают эмалью марки ЭП-525 (темно-зеленая), высушенной при температуре (20 ± 2) ºС в течение пяти суток.

2.1.2. Подготовка к испытаниям

Микологическая площадка должна обеспечивать благоприятные условия для развития микроорганизмов. Размеры, расположение и устройство микологической площадки должны соответствовать требованиям ГОСТ 9.906-83 [13].

2.1.3. Проведение испытаний

Образцы на стендах располагают вертикально, горизонтально или под заданным углом наклона. Расположение образцов указывают в программе испытаний. Расстояние между образцами должно быть не менее 5 см, расстояние образцов от поверхности земли не менее 10 см. Продолжительность испытаний – не менее 18 мес. Испытания рекомендуется начинать весной. Если испытания начинают в другой период года, то продолжительность их должна быть увеличена до двух

летних периодов. В процессе испытаний производят периодические осмотры образцов через один, три и далее через каждые три месяца. Образцы осматривают невооруженным глазом, а если развитие микроорганизмов на образцах не обнаружено, – под микроскопом при 50 – 60-кратном увеличении.

Образцы снимают с испытаний на срок не более одних суток. При этом образцы должны находиться в нормальных климатических условиях испытаний и не подвергаться воздействию солнечного света; ветра и т. п.

После съема образцов проводят визуальную оценку степени развития микроорганизмов, изменения внешнего вида, определение показателей свойств материалов. Выделение микроорганизмов с образцов проводят в соответствии с рекомендуемым прил. 5. Проводят идентификацию выделенных микроорганизмов в том случае, если это предусмотрено программой испытаний.

2.1.4. Оценка результатов

Оценку микробиологической стойкости образцов производят невооруженным глазом или при 50 – 60-кратном увеличении. Оценку микробиологической стойкости образцов по степени развития микроорганизмов проводят с учетом типа микроорганизмов. Родовой состав плесневых грибов, поражающих полимерные материалы в различных климатических районах, приведен в прил. 6. При наличии на образцах плесневых грибов оценку степени развития производят в баллах по ГОСТ 9.048-89 [14].

При наличии на образцах бактерий или актиномицетов оценку производят по величине отношения поверхности, покрытой микроорганизмами, к общей площади образца в процентах.

2.2. Метод оценки полимерных материалов на стойкость к воздействию плесневых грибов в лабораторных условиях

Для оценки стойкости к воздействию плесневых грибов полимерных материалов в лабораторных условиях установлены три метода испытаний [15].

Сущность методов заключается в выдерживании материалов, зараженных спорами грибов, в условиях, оптимальных для их развития, с последующей оценкой грибостойкости по степени развития плесневых грибов и (или) изменению характерных показателей свойств материалов.

Существуют следующие методы оценки полимеров:

метод 1 – грибостойкость полимерных материалов и их компонентов при отсутствии минеральных и органических загрязнений;

метод 2 – грибостойкость полимерных материалов и их компонентов в условиях, имитирующих минеральные загрязнения;

метод 3 – наличие фунгицидных и фунгистатических свойств и грибостойкость полимерных материалов и их компонентов в условиях, имитирующих минеральные загрязнения.

Выбор метода испытаний определяется предполагаемыми условиями изготовления и применения полимерного материала в соответствии с нормативно-технической документацией:

метод 1 – практически исключает любое загрязнение полимерного материала;

метод 2 – исключает загрязнение полимерного материала органическими веществами;

метод 3 – не исключает как органическое, так и минеральное загрязнение материала.

2.2.1. Метод 1

Сущность метода заключается в том, что образцы, очищенные от внешних загрязнений, заражают водной суспензией спор грибов и выдерживают в течение 28 сут в условиях, оптимальных для их развития, с последующей оценкой грибостойкости по степени развития плесневых грибов.

2.2.1.1. Отбор образцов

При оценке грибостойкости полимерных материалов и их компонентов по степени развития грибов образцы, изготовленные прессованием, вырубкой или другим способом, не вызывающим изменения структуры и химического состава, должны иметь форму пластин размером 30 × 30 или 50 × 50 мм или дисков диаметром 30 – 50 мм. Толщина дисков и пластин должна быть 1 – 2 мм.

2.2.1.2. Виды грибов

Для проведения испытаний используют следующие виды грибов:
Aspergillus niger van Tieghem,
Aspergillus terreus Thom,
Aspergillus oryzae (Ahlburg) Cohn,
Chaetomium globosum Kunze,
Paecilomyces varioti Bainier,
Penicillium brevicompactum Dierckx,
Penicillium chrysogenum Thom,
Penicillium funiculosum Thom,
Penicillium cyclopium Westllng,
Trichoderma viride Pens, ex Fr.

В технически обоснованных случаях допускается применять другие микроорганизмы.

Для выращивания и хранения культур грибов используют различные питательные среды. Их состав и приготовление описаны в прил. 1.

2.2.1.3. Подготовка к испытаниям

Из исходной культуры грибов готовят рабочую культуру. Для этого используют питательную среду Чапека – Докса с агаром. Состав среды:

калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,7 г;
калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный – 0,3 г;
магний сернокислый 7-водный – 0,5 г;
натрий азотнокислый – 2,0 г;
калий хлористый – 0,5 г;
железо (II) сернокислое 7-водное – 0,01 г;
агар микробиологический – 20,0 г;
вода дистиллированная – 1000,0 $см^3$.

Приготовленную питательную среду нагревают на водяной бане до полного расплавления агара. При нагревании колбу со средой взбалтывают. В полученную однородную массу добавляют 30 г сахарозы и тщательно перемешивают содержимое колбы. pH среды Чапека – Докса с агаром должен быть 6 ± 0,5. До нужного значения pH доводим добавлением 0,01 моль/$дм^3$ HCl или NaOH, KOH.

Разливают приготовленную среду в пробирки с ватными пробками на 1/3 их высоты.

Стерилизуют пробирки со средой в автоклаве (давление – 50 кПа, время – 20 – 30 мин).

После стерилизации пробирки ставят на водяную баню, расплавляют агар (или вынимают пробирки из автоклава, когда температура не опустилась до 40 ºС, т. е. пока агар не застыл) и размещают пробирки в наклонном положении для получения скошенной поверхности.

Из исходной культуры грибов делают пересев в пробирки на поверхность скошенного питательного агара. Посев необходимо проводить в микробиологическом боксе при помощи бактериологической петли, прокаленной над пламенем спиртовой горелки.

Засеянные спорами грибов пробирки помещают в термостат при постоянной температуре 29 ± 2 ºС на 10 – 14 сут для появления зрелого спороношения.

Через 10 – 14 сут готовят суспензию спор грибов. Суспензию спор грибов готовят отдельно для каждого вида гриба. Для этого с помощью бактериологической петли, прокаленной над пламенем спиртовой горелки, споры грибов из каждой пробирки переносят в колбу со стерильной дистиллированной водой, тщательно перемешивают встряхиванием до разделения всех комочков спор и отфильтровывают через четыре слоя стерильной марли от кусочков мицелия, агара и комочков спор. Концентрацию спор грибов определяют с помощью фотоэлектрического концентрационного колориметра (КФК-2). Для определения концентрации спор грибов в размере 1 – 2 млн/см^3 используют светофильтр $\lambda = 400$ нм и кювет $l = (50 \pm 0{,}5)$ мм. Оптическая плотность растворов, соответствующих концентрации 1 – 2 млн/см^3 некоторых видов грибов, приведена в табл. 2.

Таблица 2

Оптическая плотность суспензии грибов, соответствующих концентрации 1 – 2 млн/см^3

Вид грибов	**Оптическая плотность D**
Aspergillus niger	0,220 – 0,440
Aspergillus terreus	0,190 – 0,380
Paecilomyces varioti	0,280 – 0,550
Penicillium funiculosum	0,100 – 0,200
Trichoderma viride	0,235 – 0,470

Суспензию спор каждого вида гриба смешивают в равных объемах и используют для заражения образцов. Приготовление суспензии спор грибов см. в прил. 3.

Срок хранения суспензии – не более шести часов с момента приготовления.

2.2.1.4. Контроль жизнеспособности спор грибов

Готовят чашки Петри со стерильной агаризованной средой Чапека – Докса. С этой целью в стерильном боксе в чашки Петри наливают 20 – 30 $см^3$ среды Чапека – Докса с агаром и дают ей застыть.

Стерильной пипеткой берут суспензию одного вида гриба и наносят в виде капли на поверхность среды. Для нанесения суспензии каждого вида гриба используют отдельную пипетку.

Чашки Петри помещают в камеру или эксикатор, на дно которого налита вода. Камеру или эксикатор закрывают. Испытания проводят при температуре 29 ± 2 ºС и относительной влажности более 90 %.

Контрольные чашки Петри осматривают через пять суток. Если на питательной среде не наблюдается развития грибов, то они считаются нежизнеспособными. В этом случае готовят новую суспензию из новой партии культур грибов.

2.2.1.5. Проведение испытаний

Вырезают образцы покрытий в форме пластин 10 × 30 мм и толщиной (2 ± 0,3) мм.

Образцы очищают от внешних загрязнений бязевым тампоном, смоченным в этиловом спирте. Расход спирта от 0,05 до 0,1 $дм^3/м^2$. Очистку следует проводить в резиновых перчатках.

Эксикатор, колбы с суспензий спор грибов, кассеты и (или) подставки и образцы помещают в бокс.

В боксе образцы заражают водной суспензией спор грибов. Суспензию наносят равномерно с помощью пульверизатора с диаметром (1,0 ± 0,2) мм, не допуская слияния капель.

Зараженные образцы выдерживают в боксе при температуре (25 ± 10) ºС и относительной влажности воздуха от 70 до 80 % до высыхания капель, но не более 60 мин.

Образцы помещают в камеру или эксикатор, на дно которого налита вода. Расстояние от стенок камеры или эксикатора не менее 50 мм.

Камеру или эксикатор закрывают и ставят в термостат на 28 сут. Образцы должны выдерживаться при постоянной температуре 29 ± 2 ºС и относительной влажности воздуха более 90 %.

В процессе испытаний каждые семь суток крышку эксикатора приоткрывают на три минуты для доступа воздуха.

При проведении промежуточных осмотров и по окончании испытаний образцы извлекают из эксикатора, осматривают невооруженным глазом, затем под микроскопом МБС-10 оценивают грибостойкость каждого образца по интенсивности развития грибов по шестибалльной шкале ГОСТ 9.048-89 (табл. 3).

Таблица 3

Оценка грибостойкости полимерных материалов по ГОСТ 9.048-89

Балл	**Характеристика балла**
0	Под микроскопом прорастания спор и конидий не обнаружено
1	Под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развитый мицелий
2	Под микроскопом виден развитый мицелий, возможно спороношение
3	Невооруженным глазом мицелий и (или) спороношение едва заметны, но отчетливо видны под микроскопом
4	Невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих менее 25 % испытуемой поверхности
5	Невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих более 25 % испытуемой поверхности

2.2.1.6. Стерилизация и хранение посуды

Новую посуду промывают водой при температуре (60 ± 10) ºС с моющим порошком, затем погружают на 20 мин в 2 %-ный раствор соляной кислоты и промывают дистиллированной водой.

Использованную посуду помещают в 5 %-ный раствор перекиси водорода на 5 ч и моют при температуре (60 ± 10) ºС с моющим порошком, затем погружают на 20 мин в 2 %-ный раствор соляной кислоты и промывают дистиллированной водой.

Чашки Петри и пробирки с культурами грибов обеззараживают в автоклаве при давлении 100 кПа в течение 60 мин, затем обрабатывают в соответствии с вышеприведенными действиями.

Вымытую посуду заворачивают в бумагу, предварительно закрыв колбы, пробирки и пипетки ватными пробками, и стерилизуют в термостате при температуре 160 ºС в течение 150 ± 5 мин.

Стерильную посуду хранят в сухом помещении в отдельном шкафу в бумаге не более 10 сут.

Мелкий металлический инструмент (ножницы, пинцеты и т. п.) стерилизуют и хранят аналогичным образом.

2.2.2. Метод 2

Сущность метода заключается в том, что полимерный материал заражают спорами плесневых грибов в водном растворе минеральных солей. Плесневые грибы растут за счет солей минеральной среды и питательных веществ, содержащихся в материале.

2.2.2.1. Отбор образцов

Образцы отбирают при оценке грибостойкости по степени развития грибов – по п. 2.2.1.1.

2.2.2.2. Виды грибов

Виды грибов – по п. 2.2.1.2.

2.2.2.3. Подготовка к испытаниям

Посуду, применяемую для испытаний, подготавливают по ГОСТ 9.048-89.

Среды для выращивания и хранения культур грибов и испытаний – по ГОСТ 9.048-89.

Образцы полимерных материалов очищают от внешних загрязнений, погружая на 1 мин в этиловый спирт, и высушивают или протирают бязевым тампоном, смоченным этиловым спиртом.

Поверхность материалов, не стойких к спирту, очищают дистиллированной водой, нагретой до (50 ± 100) ºС.

2.2.2.4. Проведение испытаний

Готовят суспензию спор грибов в среде Чапека – Докса без сахарозы по ГОСТ 9.048-89, используя культуры грибов по п. 2.1.2.

Образцы размещают в эксикаторах, на дно которых налита вода. Расстояние между образцами должно быть не менее 10 мм. Образцы компонентов помещают по одному в чашки Петри. Допускается помещать образцы сыпучих материалов в лунки на срезе их выщелоченного агара по ГОСТ 9.048-89.

Чашки Петри с образцами в эксикаторах и контрольные чашки Петри переносят в бокс. Поверхность образцов заражают суспензией спор грибов равномерным опрыскиванием, не допуская слияния капель. Поверхность образцов сыпучих и жидких компонентов заражают нанесением 7 – 10 капель суспензии пипеткой с диаметром выходного отверстия (1,0 ± 0,2) мм. Зараженные материалы выдерживают в боксе при температуре (25 ± 10) ºС до высыхания капель, но не более 60 мин. Затем материалы, предназначенные для оценки грибостойкости по изменению показателей свойств, переворачивают зараженной стороной вниз, опрыскивают суспензией из спор с другой стороны и высушивают в тех же условиях. Чашки Петри и эксикаторы закрывают крышками.

Испытания проводят при температуре (29 ± 2) ºС и относительной влажности воздуха более 90 %. В эксикаторе не допускают конденсации влаги и воздействия прямого естественного или искусственного освещения.

Продолжительность испытаний при оценке грибостойкости материалов по степени развития грибов составляет 28 сут с промежуточным осмотром через 14 сут. По истечении 5 сут осматривают контрольные чашки Петри на жизнеспособность спор грибов по ГОСТ 9.048-89. Если на питательной среде развитие грибов не наблюдается, споры грибов, используемые для заражения, считаются нежизнеспособными. Испытания повторяют со вновь приготовленной суспензией из новой партии грибов. В дальнейшем через каждые 7 сут крышку эксикатора приоткрывают на 3 мин для притока воздуха.

При проведении промежуточных осмотров и по окончании испытаний образцы извлекают из камеры (эксикатора), осматривают невооруженным глазом в рассеянном свете при освещенности 2000 – 3000 лк и при увеличении 56 – 60Х. Оценивают грибостойкость материалов по интенсивности развития грибов по шестибалльной шкале ГОСТ 9.048-89.

2.2.3. Метод 3

Сущность метода заключается в том, что материал заражают спорами плесневых грибов в растворе минеральных солей с добавлением сахара (среда Чапека – Докса).

2.2.3.1. Отбор образцов

При определении фунгицидных и фунгистатических свойств образцы отбирают по п. 2.2.1.1.

2.2.3.2. Виды грибов

Виды грибов – по п. 2.2.1.2.

2.2.3.3. Подготовка к испытаниям

Посуду, применяемую для испытаний, среды для выращивания и хранения культур грибов и испытаний, пересев, выращивание и хранение культур грибов, чашки Петри для контроля жизнеспособности спор грибов подготавливают по ГОСТ 9.048-89. При определении фунгицидных и фунгистатических свойств готовят среду Чапека – Докса с агаром по ГОСТ 9.048-89, разливают в чашки Петри в количестве 20 – 30 $см^3$ и дают застыть. Материал очищают от внешних загрязнений и размещают по одному в чашки Петри.

2.2.3.4. Проведение испытаний

Готовят суспензию спор грибов в среде Чапека – Докса с сахарозой по ГОСТ 9.048-89, используя культуры грибов по п. 2.1.2.

Дальнейший порядок проведения испытаний – по п. 2.2.4. Продолжительность испытаний при определении фунгицидных и фунгистатических свойств – не менее 14 сут.

Материал считают выдержавшим испытание, если на его поверхности обнаружены грибы, интенсивность развития которых не более 3 баллов и характерные показатели не выходят за пределы, установленные научно-технической документацией.

В табл. 4 приведена сравнительная оценка грибостойкости материала по степени развития плесневых грибов по ГОСТ 9.049-91 и международному стандарту ISO 846:1997 «Пластмассы. Оценка воздействия микроорганизмов» [16].

Таблица 4

Оценка грибостойкости материала по степени развития плесневых грибов

Метод	Степень развития плесневых грибов		Оценка материала
	ГОСТ 9.049-91	ISO 846:1997	
1	0	–	Материал не является питательной средой (нейтрален или фунгистатичен)
	1, 2		Материал содержит питательные вещества, которые обеспечивают незначительное развитие грибов
	3, 4, 5		Материал содержит достаточное количество питательных веществ, благоприятствующих развитию грибов
2	0	0	Материал не является питательной средой для грибов и грибоустойчив при наличии минеральных загрязнений.
	1, 2, 3	1	Материал содержит питательные вещества или загрязнения в такой степени, что это способствует лишь незначительному развитию грибов
	4, 5	2, 3	Материал не обладает сопротивлением к поражению плесневыми грибами и содержит питательные вещества, способствующие развитию грибов при наличии минеральных загрязнений
3	0	0	Сильный фунгистатический эффект
	1	1	Слабая фунгицидность
	2 – 5	2 – 5	Фунгицидный эффект отсутствует

2.3. Международные стандарты определения стойкости полимерных материалов к плесневым грибам и бактериям

В зарубежных странах существуют методы ускоренных лабораторных испытаний полимерных материалов на устойчивость к грибам и бактериям.

Стандарт ASTM G21-15 «Стандартная практическая процедура определения стойкости синтетических полимерных материалов к плесневым грибам» [17] относится к определению влияния грибов на свойства синтетических полимерных материалов. Технически по этой методике можно проверить любой композитный полимерный матери-

ал, форму и профиль. Любое конкретное свойство полимеров можно выбрать для регистрации, например изменения в оптических, механических и электрических свойствах. Методика испытаний состоит в том, что приготовляется суспензия спор из культур, которые наиболее активны при воздействии на полимеры. Рекомендованы следующие грибы для приготовления испытательных культур:

Aspergillus niger
Penicillium pinophilum
Chaetomium globosum
Gliocladium virens
Aureobasidium pullulans

Поскольку ряд других организмов может представлять определенный интерес для некоторых полимерных материалов, можно использовать прочие чистые культуры в соответствии со стандартной практикой ASTM. Приготовленная суспензия спор используется в качестве контрольного материала для оценки скорости роста плесневых грибов в отсутствии полимерного образца.

Испытуемые образцы из материала, подлежащего тестированию, могут иметь размер 50 × 50 мм (2 × 2 дюйма), или диаметр 50 мм (2 дюйма), или длину не менее 76 мм (3 дюйма). Испытания проводят в чашке Петри или ином подходящем стеклянном сосуде, на дне которого помещают питательный солевой раствор агара. Затем на внутреннюю поверхность через пульверизатор наносят суспезию спор; зараженные образцы накрывают крышкой и помещают в инкубатор, температура в котором поддерживается на уровне 28 – 30 ºС, а влажность составляет не менее 85 %.

Стандартная продолжительность теста – 28 дней инкубации (или меньше для образцов, отвечающих оценке роста 2 или больше). Если испытание проводится только на наличие визуальных эффектов, то стандартная практика ASTM рекомендует следующую систему оценок (по наблюдаемому росту плесневых грибов на образцах):

Степень роста грибов	**Оценка**
–	0
Следы роста (< 10 %)	1
Слабый рост (10 – 30 %)	2
Средний рост (30 – 60 %)	3
Сильный рост (60 % от полного покрытия)	4

Оценка устойчивости полимерных материалов к бактериям регламентируется стандартом ASTM G22 [18]. Испытания образцов проводятся аналогично испытаниям на стойкость полимерных материалов к действию плесневых грибов (стандарт ASTM G21-15), только вместо суспензии спор грибов используют суспензию, содержащую бактериальные клетки. Испытания проводят следующим образом: на образец полимерного материала, помещенного в чашку Петри, распыляется суспензия бактериальных клеток. Далее образцы на 21 день помещают в инкубатор, где они хранятся в стандартизованных условиях. По истечении срока определяют устойчивость образцов полимерных материалов к бактериям, используя систему оценок (по наблюдаемому росту бактерий на образцах), как и в стандарте ASTM G21-15.

Ускоренное определение грибостойкости красок и аналогичных покрытий в ведущих зарубежных странах регламентируется стандартом ASTM D5590 [19].

Методика выполнения по стандарту ASTM D5590 следующая: на образцы полимерных покрытий проводят распыление суспензии спор плесени, таких, как *Aspergillus niger, Cladosporium* s*phaerospermum, Penicillium funiculosum.* После этого образцы хранятся в течение 28 дней в теплом и влажном климатическом шкафу. Температура поддерживается 25 ºС, влажность не менее 90 %. После окончания процесса инкубации образцы оценивают визуально путем изучения поверхности материала в стереомикроскоп с увеличением 40Х. Размер поражения оценивается в соответствии с установленной шкалой (табл. 5).

Таблица 5

Градуировка поражений плесневыми грибами

Размер поражения	**Классификация по степени поражения**	**Описание**
Ничего	0	Никаких видимых поражений
Малое число	1	Немного или отдельные поражения, произрастания
Умеренно	2	Пятнами или слабые видимые поражения
Обильные пятна	3	Сильное пятнистое поражение
В целом обильное	4	Обильные повреждения на всей поверхности или частично сильные повреждения, между пятнами имеются повреждения в меньшей степени
Очень обильное	5	Сильное повреждение на весь материал

2.4. Метод испытаний лакокрасочных покрытий на устойчивость к воздействию плесневых грибов

Сущность метода заключается в выдерживании лакокрасочных покрытий в условиях оптимального развития грибов на образцах с последующей оценкой грибостойкости.

2.4.1. Отбор образцов

Образцы должны иметь форму пластин размером 50 × 50 или 60 × 40 мм с нанесенным с обеих сторон пластины лакокрасочным покрытием. Края образцов защищают испытуемым покрытием.

2.4.2. Виды грибов

Для испытаний применяют следующие виды грибов:
Aspergillus niger van Tieghem
Aspergillus terreus Thom
Alternaria alternata Keissler
Fusarium moniliforme Sheldon
Penicillium brevicompactum Dierckx
Penicillium chrysogenum Thom
Penicillium funiculosum Thom
Penicillium ochrochloron Biourge
Penicillium martensii Biourge
Trichoderma viride Persex Fr.

2.4.3. Подготовка к испытаниям

Подготовку посуды для испытаний, сред для выращивания и хранения культур грибов и испытаний, пересев, выращивание и хранение культур грибов производят по ГОСТ 9.048-89. Образцы очищают от внешних загрязнений бязевым тампоном, смоченным теплой водой, нагретой до (50 ± 10) ºС, с мылом.

2.4.4. Проведение испытаний

Суспензию спор грибов в воде готовят по ГОСТ 9.048-89, используя виды грибов по п. 3.2.

Образцы размещают в приспособлении, обеспечивающем угол наклона образцов 60º ± 15, или в чашке Петри. Расстояние между образцами в приспособлении должно быть не менее 20 мм.

Чашки Петри с образцами переносят в микробиологический бокс и поверхность образцов заражают водной суспензией спор грибов путем ее равномерного нанесения с помощью пульверизатора, не допуская слияния капель.

Зараженные образцы выдерживают в боксе при температуре (25 ± 10) ºС и относительной влажности воздуха до 80 % до высыхания капель, но не более 60 мин. Образцы и контрольные чашки Петри помещают в камеру или эксикатор, на дно которого налита вода. Камеру (эксикатор) закрывают.

Испытания проводят при температуре (29 ± 2) ºС и относительной влажности воздуха 90 %. В камере (эксикаторе) недопустимы конденсация влаги, принудительная вентиляция и воздействие прямого естественного или искусственного освещения.

Продолжительность испытания с момента установления режима – 28 сут.

По истечении 5 сут производят осмотр контрольных чашек Петри. Если на питательной среде развитие грибов не наблюдается, то споры грибов, использованные для заражения, считают нежизнеспособными. Испытания повторяют на новых образцах со вновь приготовленной суспензией из новой партии грибов. В дальнейшем через каждые 7 сут камеру (эксикатор) приоткрывают на 3 мин для притока воздуха.

По окончании испытаний образцы извлекают из камеры (эксикатора), осматривают невооруженным глазом в рассеянном свете при освещенности 2000 – 3000 лк и увеличении 56 – 60Х и оценивают грибостойкость покрытия. Лакокрасочное покрытие обладает фунгицидными свойствами, если вокруг образца на питательной среде наблюдается зона отсутствия развития грибов или на поверхности или краях образца наблюдается развитие грибов, оцениваемое баллами 0 и 1 по шестибалльной шкале ГОСТ 9.048-89.

Контрольные вопросы

1. В чем заключается сущность методов оценки полимерных материалов и их компонентов на стойкость к воздействию плесневых грибов?

2. Какие виды грибов используют для оценки полимерных материалов и их компонентов на стойкость к воздействию плесневых грибов?

3. Каков порядок приготовления рабочей культуры грибов?

4. Каков порядок приготовления суспезии спор грибов?

5. Как осуществляется контроль жизнеспособности спор грибов?

6. В чем заключается методика проведения испытаний образцов?

7. Охарактеризуйте балльную оценку грибостойкости полимерных материалов.

8. Какие существуют международные стандарты определения стойкости полимерных материалов к плесневым грибам и бактериям?

9. Каков порядок стерилизации и хранения посуды?

10. В чем заключается сущность метода испытаний лакокрасочных покрытий на устойчивость к воздействию плесневых грибов?

11. Какие виды грибов используются в данном методе?

12. Каков порядок приготовления суспезии спор грибов?

13. В чем заключается методика проведения испытаний образцов лакокрасочных покрытий?

14. Каковы критерии оценки грибостойкости лакокрасочного покрытия по шестибалльной шкале?

3. САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Цель санитарно-микробиологических исследований полимерных строительных материалов – это определение:

- сроков выживания на них патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов (тест-культур);
- уровня или степени антибактериальной активности материалов с заданными при их производстве антибактериальными свойствами;
- степени микробного загрязнения поверхности полимерных материалов в процессе эксплуатации.

3.1. Определение сроков выживания микроорганизмов (тест-культур) на поверхности полимерных материалов

Санитарно-микробиологическое изучение полимерных материалов предваряет обязательная подготовка образцов к исследованию, состоящая в смывании загрязнения с поверхности моющими средствами под проточной водой с последующим ополаскиванием дистиллированной водой и высушиванием.

При определении сроков выживания отдельных патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов (тест-культур) испытуемые образцы могут подвергаться какому-либо способу стерилизации (например, с помощью автоклава или обжигания обработанной спиртом поверхности) в режиме, не изменяющем внешнего вида материала и его структуры, а также антимикробных свойств, если таковые были приданы полимерному материалу при изготовлении.

Определение сроков выживания патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов (тест-культур) проводится в три этапа:

1. Нанесение культуры микроорганизмов на поверхность испытуемого материала и контрольного образца (в качестве контроля может использоваться, например, стекло, инертное для микроорганизмов).

2. Отбор проб через определенные промежутки времени и посев на питательные среды (специфичные для данной тест-культуры) для качественного или количественного учета микроорганизмов, выращивание.

3. Учет результатов, статистическая обработка и интерпретация полученных данных.

Выбор микроорганизмов, в отношении которых проводится изучение влияния полимерного материала, определяется целевым предназначением последнего. Чаще всего в качестве тест-культур используются культуры Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa.

Количественное определение микроорганизмов на единице площади исследуемого образца материала осуществляют на основании предварительного расчета исходной концентрации микроорганизмов в единице объема заражающей взвеси.

Нанесение взвеси тест-культуры микроорганизмов на поверхность полимерного материала производится капельным или аэрозольным методом.

При использовании капельного метода на одинаковой для контрольного и опытного образцов площади распределение капель при одинаковом объеме наносимой взвеси должно быть максимально равномерным.

Аэрозольный метод обязательно предполагает применение специальных герметичных камер с распылителем и требует не только отработки исходной концентрации микроорганизмов в единице объема заражающей суспензии, но и времени ее распыления, длительности перемешивания воздуха в камере, времени оседания крупных частиц аэрозоля бактериальной взвеси.

После нанесения тест-культуры и до отбора проб контрольные и опытные образцы материалов должны находиться в условиях, препятствующих оседанию бактерий из воздуха (например, в камере при использовании аэрозольного метода или в чашках Петри при капельном методе), в одинаковых условиях температуры, освещенности и влажности.

Отбор проб может осуществляться общепринятыми в микробиологической практике методами смывов или отпечатков. При количественном учете микроорганизмов важна полнота забора клеток с поверхности образца, с этой целью смывы и отпечатки можно производить с одного и того же участка три – четыре раза (одинаковое число раз как с опытных, так и с контрольных образцов). При подсчете выросшие на плотных средах колонии, снятые с одного участка, суммируют. Многократный отбор проб с одного участка особенно важен при изучении материалов с заданными антибактериальными свойствами.

Кроме того, при использовании образцов полимерных материалов небольшого размера для наиболее полного снятия микроорганизмов с их поверхности оптимально отмывание мерным количеством стерильного физиологического раствора при непосредственном погружении образцов в колбы или широкие пробирки со стеклянными бусами с последующим посевом определенных кратных объемов смывной жидкости (позволяющих произвести количественный учет) на плотные среды.

Для достижения статистической достоверности результатов необходимо использовать репрезентативное количество образцов (повторностей) как в опыте, так и в контроле.

При количественном определении содержания микроорганизмов подсчитывают все выросшие на плотных питательных средах после термостатирования колонии. Для подтверждения роста именно тест-культур, а также для изучения влияния полимерных материалов на биологические свойства микроорганизмов две-три колонии окрашивают по Граму и проводят изучение биологических свойств общепринятыми методами.

Сравнение количества колоний, выросших при посеве смывов с полимерных материалов, с количеством колоний в контроле позволяет определить степень влияния исследуемых образцов на жизнеспособность тех или иных используемых для заражения микроорганизмов. Учитывая динамику отмирания микроорганизмов на образцах за разные периоды времени, можно получить дополнительные данные о характере этого влияния.

3.2. Изучение антимикробной активности материалов

Определение уровня антимикробной активности полимерных материалов может проводиться с помощью трех методов:

1) диффузионного метода, или метода «зон»;

2) капельного метода;

3) аэрозольного метода.

Два последних метода – количественные и в лабораторных условиях имитируют реальные условия эксплуатации и возможного заражения полимерных материалов инфекционными агентами.

В качестве тест-культур используют культуры микроорганизмов, выбор которых определяется целевым предназначением данного материала и поставленными задачами. Спектр микроорганизмов, по отношению к которым определяется антимикробная активность полимерного материала, как правило, довольно значительный и включает микроорганизмы, представляющие собой этиологические агенты инфекций с воздушно-капельным и фекально-оральным механизмами передачи.

При постановке диффузионного метода образцы полимерного материала одинакового размера накладывают на засеянную «газоном» поверхность питательного агара в чашках Петри. После выращивания культуры в течение времени и при температуре, оптимальной для данного микроорганизма, измеряют величину зоны задержки роста микроорганизма (от края образца до границы роста микроорганизма) в миллиметрах. По величине этой зоны можно судить о наличии антимикробного действия материала.

Диффузионный метод используют, как правило, в качестве скринингового для отбора полимерного материала, перспективного для дальнейших исследований, и для определения культур, по отношению к которым антимикробная активность исследуемого материала будет изучаться более подробно.

С помощью капельного и аэрозольного методов можно проводить качественную и количественную оценку антимикробного действия полимерного материала, определяя не только степень антимикробного действия, но и его динамику во времени. Заражение поверхностей испытуемых материалов и контрольных образцов взвесью тест-культур с рассчитанной предварительно концентрацией микроорганизмов, отбор проб, посев на плотные среды, выращивание и учет результатов проводят так же, как при определении сроков выживания. Время, через которое отбирают пробы после заражения испытуемых образцов, учитывая их антимикробное действие, существенно сокращается по сравнению с таковым в экспериментах по определению выживаемости микроорганизмов на полимерных материалах без антимикробных свойств. Пробы при использовании капельного метода отбирают после экспозиции в течение 10, 20, 30, 40, 50 и 60 мин, аэрозольного метода – через 16 – 18 ч. Сравнивая количество колоний в посевах смывной жидкости или на отпечатках с поверхности антимикробных и контрольных образцов полимерного материала, определяют процент гибели микроорганизмов.

Постановка капельного и аэрозольного метода при определении степени антимикробной активности материалов требует на протяжении всего времени экспозиции строго одинаковых условий температуры, освещенности и влажности для всех (опытных и контрольных)

образцов. Количество взятых в опыт экземпляров опытных и контрольных образцов должно обеспечивать статистическую достоверность результатов.

3.3. Определение степени микробного загрязнения поверхностей полимерных материалов в процессе эксплуатации

Санитарно-бактериологический контроль при эксплуатации полимерных материалов может быть дополнен (по эпидемиологическим показаниям) определением степени бактериального загрязнения их поверхности. Для этого выявляют количественное содержание сапрофитной микрофлоры, санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов, выбор которых зависит от конкретной эпидемиологической ситуации.

Способ отбора проб для исследований может зависеть от формы поверхности предметов, изготовленных из полимерных материалов. Отбор проб (методом смывов или отпечатков) и проведение исследований осуществляются так же, как и при изучении выживаемости тест-культур на полимерных материалах.

Контрольные вопросы

1. Какова цель санитарно-микробиологических исследований полимерных строительных материалов?
2. Каковы этапы определения сроков выживания патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов (тест-культур)?
3. Какие микроорганизмы используют в качестве тест-культур?
4. Каковы методы нанесения взвеси тест-культуры микроорганизмов на поверхность полимерного материала?
5. Какие методы отбора проб используют при определении сроков выживания патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов (тест-культур)?
6. Какими методами определяют антимикробную активность полимерных материалов?
7. В чем сущность определения степени бактериального загрязнения полимерной поверхности?

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

При испытаниях изделий на грибостойкость используют грибы, которые могут быть источником опасности для человека. При работе с плесневыми грибами необходимо соблюдать требования безопасности и руководствоваться положением о порядке учета, хранения, обращения, отпуска и пересылки культур бактерий, вирусов, риккетсий, грибов, простейших, микоплазм, бактерийных токсинов, ядов биологического происхождения.

4.1. Меры индивидуальной защиты и гигиены

Лица, которые проводят испытание на грибостойкость, должны пройти медицинский осмотр, инструктаж по технике безопасности.

К работе не допускаются лица, страдающие хроническими заболеваниями дыхательных путей, повышенной аллергической реакцией и поражением открытых участков кожи.

Сотрудники должны быть обеспечены сменой медицинских халатов и шапочек, резиновыми перчатками и респираторами. Запрещается выходить в спецодежде за пределы лаборатории.

Все работы с микроорганизмами следует проводить в резиновых перчатках. После применения перчатки должны быть продезинфицированы 6 %-ным раствором перекиси водорода с 0,5 % моющего средства. Для защиты дыхательных путей следует использовать респиратор.

4.2. Требования к оборудованию

Камера для испытаний должна быть оборудована системой вытяжки, обеспечивающей отток воздуха от человека. Внутреннюю обшивку камеры выполняют из грибостойкого материала.

До и после испытаний камеру, эксикаторы, кассеты и подставки дезинфицируют водным раствором, содержащим 6 % перекиси водорода и 0,5 % моющего средства, и промывают теплой водой. Расход раствора от 0,1 до 0,2 дм/м^3. Затем облучают ультрафиолетовой лампой в течение (25 ± 5) мин.

Микроскопы, рабочий столик и мелкий инструмент протирают этиловым спиртом.

Образцы после испытаний дезинфицируют 6 %-ным раствором перекиси водорода и облучают УФ-лампой ОБН-150 в течение (60 ± 10) мин на расстоянии 50 см от образца. Оптические детали протирают спиртом.

Образцы, сильно пораженные грибами, по окончании испытаний дезинфицируют в автоклаве при давлении 100 кПа в течение 60 мин и уничтожают.

Работы с автоклавом, камерами, термостатами и УФ-лампами ОБН-150 проводят в соответствии с инструкциями и правилами эксплуатации, утвержденными в установленном порядке.

4.3. Требования к помещению

Помещение, предназначенное для испытаний, должно быть изолированным, с отдельным входом, двойными дверями и тамбуром.

Помещение должно быть светлым, сухим и теплым, хорошо освещаться дневным светом, с установленными УФ-лампами ОБН-150.

Помещение должно быть оборудовано системой приточно-вытяжной вентиляции с микробиологическими фильтрами ФЛА-1, иметь холодную и горячую воду, газовые горелки, шкаф для хранения реактивов, боксы для работы с грибами и проведения заражения образцов, комнату для оформления результатов испытаний, моечную и автоклавную. Потолки, стены и полы должны быть изготовлены из материалов, подвергающихся мойке и дезинфекции.

В помещении проводят ежедневную влажную уборку с дезинфицирующими средствами и дезинфекцию УФ-лампами ОБН-150 в течение (25 ± 5) мин.

Контрольные вопросы

1. Какие меры индивидуальной защиты и личной гигиены необходимо соблюдать при работе с плесневыми грибами?

2. Какие требования предъявляют к оборудованию и приборам при работе с плесневыми грибами?

3. Какие требования предъявляют к помещениям при работе с плесневыми грибами?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное пособие позволяет студентам познакомиться с основными биоповреждающими агентами полимерных материалов, способами их выявления, основными методами оценки стойкости полимерных материалов к действию различных микроорганизмов и, в частности, плесневых грибов и бактерий.

Рассмотрены вопросы биоповреждения полимерных материалов и лакокрасочных покрытий микроорганизмами, методы их защиты от биоповреждений. Представлены различные стандарты оценки биостойкости полимерных материалов, действующие как в нашей стране, так и за рубежом. Дана характеристика проведения санитарно-микробиологического исследования полимерных материалов, описаны методики оценки их биостойкости.

Усвоение обучающимися представленного материала способствует развитию у них теоретических и практических навыков и компетенций в области оценки биостойкости полимерных материалов и принятия правильного решения по их использованию и применению.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семенов, С. А. Характеристики процессов и особенности повреждения материалов техники микроорганизмами в условиях эксплуатации / С. А. Семенов, К. З. Гумаргалиева, Г. Е. Заиков // Тонкие химические технологии. – 2008. – Т. 3. – № 2. – С. 1 – 21.

2. Кац, Н. Г. Химическое сопротивление материалов и защита оборудования нефтегазопереработки от коррозии / Н. Г. Кац, В. П. Стариков, С. Н. Парфенов. – М. : Машиностроение, 2011. – 436 с. – ISBN 978-5-94275-555-3.

3. Варченко, Е. А. Особенности оценки биоповреждений и биокоррозии материалов в природных средах / Е. А. Варченко // Политематический сетевой электронный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – № 104.

4. Ильичев, В. Д. Экологические основы защиты от биоповреждений / В. Д. Ильичев, Б. В. Бочаров, М. В. Горленко. – М. : Наука, 1985. – 262 с.

5. Рудакова, А. К. Микробиологическая стойкость полихлорвиниловых пластикатов, применяемых в кабельной промышленности / А. К. Рудакова // Труды Всероссийского научно-исследовательского проектно-конструкторского и технологического института кабельной промышленности. – 1969. – Вып. 13. – С. 93 – 103.

6. Легонькова, О. А. Тысяча и один полимер от биостойких до биоразлагаемых / О. А. Легонькова, Л. А. Сухарева. – М. : РадиоСофт, 2004. – 272 с. – ISBN 5-93274-008-6.

7. Пехташева, Е. А. Биоповреждения и защита непродовольственных товаров : учеб. для бакалавров / Е. А. Пехташева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Дашков и Ко, 2012. – 332 с. – ISBN 978-5-394-01744-5.

8. Каневская, И. Г. Биологические повреждения промышленных материалов / И. Г. Каневская. – Л. : Наука, 1984. – 232 с.

9. Исследование биологической стойкости эпоксидных покрытий / С. Н. Богатова [и др.] // Лакокрасочные материалы и их применение. – 2011. – № 3. – С. 42 – 45.

10. Деструкция микромицетами композиционных материалов на основе природных и синтетических полимеров / В. Ф. Смирнов [и др.] // Поволжский экологический журнал. – 2011. – № 4. – С. 537 – 541.

11. Buckman, S. I. Microbiology of Paint Films / S. I. Buckman, W. D. Stift // American Paint Journal. – 1957. – Vol. 41. – P. 39 – 45.

12. Микробиологическая коррозия и защита от нее / Е. Л. Пехташева [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т. 15. – № 5. – С. 131 – 134.

13. ГОСТ 9.906-83 ЕСЗКС. Станции климатические испытательные. Общие требования. – М. : Изд-во стандартов, 2004.

14. ГОСТ 9.048-89 ЕСЗКС. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. – М. : Изд-во стандартов, 1994.

15. ГОСТ 9.049-91 ЕСЗКС. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. – М. : Изд-во стандартов, 1994.

16. ISO 846:1997. Plastics – Evaluation of the Action of Microorganisms [б. и.].

17. ASTM G21-15. Standard Practice for Determining Resistance of Synthetic Polymeric Materials to Fungi.

18. ASTM G22-76 (1996). Standard Practice for Determining Resistance of Plastics to Bacteria (Withdrawn, 2002).

19. ASTM D5590 (2010). Standard Test Method for Determining the Resistance of Paint Films and Related Coatings to Fungal Defacement by Accelerated Four-Week Agar Plate Assay.

РЕКОМЕНДАТЕЛЬНЫЙ БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Биоповреждения и защита синтетических полимерных материалов / Е. Л. Пехташева [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т. 15. – № 10. – С. 166 – 173.

2. Нетрусов, А. И. Микробиология : учебник / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. – М. : Академия, 2012. – 379 с. – ISBN 978-5-7695-8411-4.

3. Оценка устойчивости полиорганосилоксановой композиции, наполненной гальваническим шламом, к биоповреждающей активности микромицетов / В. Ю. Чухланов [и др.] // Химическая промышленность сегодня. – 2014. – № 6. – С. 39 – 45.

4. Емцев, В. Т. Микробиология : учеб. для вузов / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. – 5-е изд., перераб. и доп. – М. : Дрофа, 2005. – 445 с. – ISBN 5-7107-7750-1.

5. Коростелева, Л. А. Основы экологии микроорганизмов : учеб. пособие / Л. А. Коростелева, А. Г. Кощаев. – СПб. : Лань, 2013. – 239 с. – ISBN 978-5-8114-1400-0.

6. Ивчатов, А. Л. Микробиология : монография / А. Л. Ивчатов. – М. : Изд-во Ассоциации строит. вузов, 2013. – 120 с. – ISBN 978-5-9309-3918-7.

7. Зверева, В. В. Основы микробиологии и иммунологии / В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 368 с. – ISBN 978-5-9704-2933-4.

8. Микробиология, вирусология и иммунология : рук. к лаб. занятиям / В. Б. Сбойчаков [и др.]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 320 с. – ISBN 978-5-9704-3066-8.

9. К вопросу оценки грибостойкости материалов в некоторых отечественных стандартных методах испытаний / В. Ф. Смирнов [и др.] // Микология и фитопатология. – 2000. – Т. 34. – Вып. 6.

10. Влияние старения на грибостойкость пластмасс / Н. Ф. Абрамова [и др.] // Биоповреждения : тез. докл. 2-й Всесоюз. конф. по биоповреждениям. В 2 ч. Ч. 1. – Горький, 1981.

11. Санитарно-гигиеническая оценка полимерных и полимерсодержащих строительных материалов и конструкций, предназначенных для применения в строительстве жилых, общественных и промышленных зданий : МУ 2.1.2.1829-04 : метод. указания. – М. : Минздрав России, 2004.

12. СП 28.13330.2012. Свод правил. Защита строительных конструкций от коррозии. – М. : Минрегион России, 2012.

13. Химическая энциклопедия. В 5 т. Т. 1 / под ред. И. Л. Кнунянца. – М. : Сов. энцикл., 1988. – 623 с.

14. Гейвандов, Э. А. Экология : слов.-справ. : в 2 т. / Э. А. Гейвандов. – М. : Культура и традиции, 2002. – 384 с. – ISBN 5-86225-403-X.

15. Лялюшко, С. М. Антимикробные и противогрибковые добавки для лакокрасочных материалов / С. М. Лялюшко, Ф. С. Якушин // Лакокрасочные материалы и их применение. – 1988. – № 1.

16. ГОСТ 9.053-91 ЕСЗКС. Материалы неметаллические и изделия с из применением. Метод испытаний на микробиологическую стойкость в природных условиях в атмосфере. – М. : Изд-во стандартов, 1994.

17. ГОСТ 9.102-91 ЕСЗКС. Воздействие биологических факторов на технические объекты. Термины и определения. – М. : Изд-во стандартов, 1992.

18. Гарибова, Л. В. Основы микологии : Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов : учеб. пособие / Л. В. Гарибова, С. Н. Лекомцева. – М. : Т-во науч. изданий КМК, 2005. – 220 с. – ISBN 5-87317-265-X.

19. Сахно, О. Н. Экология микроорганизмов : учеб. пособие. В 3 ч. Ч. 1 / О. Н. Сахно, Т. А. Трифонова ; Владим. гос. ун-т. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2007. – 64 с. – ISBN 5-89368-714-0.

20. *Они же*. Экология микроорганизмов : учеб. пособие. В 3 ч. Ч. 2 / О. Н. Сахно, Т. А. Трифонова ; Владим. гос. ун-т. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2009. – 50 с. – ISBN 978-5-89368-909-9.

21. Гусев, М. В. Микробиология : учебник / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – М. : Академия, 2007. – 462 с. – ISBN 978-5-7695-3731-8.

22. Бортников, В. Г. Теоретические основы и технология переработки пластических масс : учебник / В. Г. Бортников. – М. : ИНФРА-М, 2015. – 480 с. – ISBN 978-5-16-009639-1.

23. Головкин, Г. С. Научные основы производства изделий из термопластичных композиционных материалов : монография / Г. С. Головкин, В. П. Дмитренко. – М. : ИНФРА-М, 2015. – 471 с. – ISBN 978-5-16-010757-8.

24. Сироткин, О. С. Основы современного материаловедения : учебник / О. С. Сироткин. – М. : ИНФРА-М, 2015. – 364 с. – ISBN 978-5-16-009335-2.

25. Анализ методов оценки биостойкости промышленных материалов (критерии, подходы) / Д. В. Кряжев [и др.] // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. – 2013. – № 2(1).

26. Карякина, М. И. Лакокрасочные материалы: технические требования и контроль качества : справ. пособие / М. И. Карякина, Н. В. Майорова. – М. : Химия, 1985. – 272 с.

27. Видовой состав состав микроскопических грибов и ассоциации микоорганизмов на полимерных материалах / А. Ю. Лугаускас [и др.] // Актуальные вопросы биоповреждений : сб. ст. – М. : Наука, 1983.

28. Ильичев, В. Д. Биоповреждения : учеб. пособие для биолог. спец. вузов / В. Д. Ильичев. – М. : Высш. шк., 1987. – 352 с.

29. Анисимов, А. А. Биохимические основы грибостойкости полимерных материалов / А. А. Анисимов, В. Ф. Смирнов, А. С. Семичева // Микроорганизмы и низшие растения – разрушители материалов и изделий. – М. : Наука, 1979.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

1. СРЕДА ЧАПЕКА – ДОКСА

1.1. В состав среды Чапека – Докса входят следующие реактивы:
калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,7 г;
калий фосфорнокислый двузамещенный трехводный – 0,3 г;
магний сернокислый 7-водный – 0,5 г;
натрий азотнокислый – 2,0 г;
калий хлористый – 0,5 г;
железо (II) сернокислое 7-водное – 0,01 г;
сахароза – 30 г;
вода дистиллированная – до 1000,0 $см^3$.

1.2. Массы компонентов, указанные в п. 1.1, последовательно растворяют в колбе с 500 $см^3$ дистиллированной воды, тщательно перемешивают и добавляют дистиллированную воду до 1000 $см^3$.

1.3. Показатель кислотно-щелочного равновесия питательной среды pH должен быть равен 6 ± 0,5. При отклонении от заданного значения pH снижают до требуемого значения добавлением 0,01 моль/$дм^3$ раствора соляной кислоты или повышают добавлением щелочей (едкого натра, гидроокиси калия).

2. СРЕДА ЧАПЕКА – ДОКСА С АГАРОМ

2.1. Среду готовят в соответствии с требованиями п. 1.2, но без добавления сахарозы.

2.2. В раствор добавляют 20 г микробиологического агара и нагревают на водяной бане до полного расплавления агара. При нагревании колбу со средой взбалтывают.

2.3. В полученную однородную массу добавляют сахарозу и тщательно перемешивают содержимое колбы.

2.4. Показатель кислотно-щелочного равновесия pH среды Чапека – Докса с агаром должен быть равен 6 ± 0,5.

3. СРЕДА СУСЛО-АГАР

3.1. Неохмеленное пивное сусло разбавляют дистиллированной водой до содержания сахара от 5 до 6 °Б или 3,5 °Б. Содержание сахара определяют сахаромером. В разбавленное сусло добавляют 2 % агара и содержимое колбы нагревают на водяной бане до полного его расплавления.

3.2. Показатель кислотно-щелочного равновесия среды сусло-агар pH должен быть равен 6 ± 0,5.

4. СРЕДА СУСЛО-АГАР С САХАРОЗОЙ

В неохмеленное неразбавленное сусло с содержанием сахара 16 % добавляют 60 % сахарозы, 2 % агара и содержимое колбы нагревают на водяной бане до полного расплавления агара.

5. СРЕДА САБУРО

20 г микробиологического агара заливают 1000 $см^3$ дистиллированной воды и нагревают на водяной бане до полного расплавления агара. Затем добавляют 40 г глюкозы и 10 г пептона.

6. КАРТОФЕЛЬНО-МОРКОВНАЯ СРЕДА

200 г очищенного сырого картофеля и 200 г очищенной сырой моркови отваривают вместе в течение 1 ч в 1 $дм^3$ водопроводной воды. Отвар процеживают через марлю в чистую колбу, доливают до 1 $дм^3$ водопроводной водой и добавляют 20 г агара. Содержимое колбы нагревают на водяной бане до полного расплавления агара.

7. КАРТОФЕЛЬНО-ГЛЮКОЗНАЯ СРЕДА

200 г очищенного картофеля отваривают в течение 1 ч в 1 $дм^3$ водопроводной воды, отвар процеживают через марлю в сухую чистую колбу, доливают до 1 $дм^3$ водопроводной водой, добавляют в отвар 20 г глюкозы и 20 г агара. Содержимое колбы нагревают на водяной бане до полного расплавления агара.

8. СТЕРИЛИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

8.1. Среды в расплавленном состоянии разливают в пробирки на $^2/_3$ их объема для последующего разлива в чашки Петри и на $^1/_3$ их объема для выращивания грибов в пробирках. Жидкие среды разливают в колбы. Пробирки и колбы закрывают ватными пробками и стерилизуют в автоклаве.

8.2. Среды, содержащие сахарозу и пивное сусло, стерилизуют при давлении 50 кПа в течение 20 – 30 мин, не содержащие сахарозу и пивное сусло – при давлении 100 кПа в течение 15 – 20 мин.

8.3. После стерилизации пробирки, заполненные на $^1/_3$ объема, размещают под углом 25 ± 5° к горизонтальной поверхности для получения скошенной поверхности при застывании среды.

Не допускается смачивать края пробирки и ватную пробку.

Приложение 2

ВЫРАЩИВАНИЕ, ПЕРЕСЕВ И ХРАНЕНИЕ КУЛЬТУР ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

1. Получение чистых культур плесневых грибов

Чистые культуры плесневых грибов получают один раз в три года в институте биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР. При выборе штаммов руководствуются «Каталогом культур микроорганизмов, поддерживаемых в учреждениях СССР».

2. Выращивание и пересев культур грибов

2.1. Культуры грибов, полученные в запаянных ампулах, восстанавливают согласно прилагаемой инструкции и определяют сохранение их морфолого-культуральных признаков.

2.2. Восстановленные культуры грибов пересевают в пробирки со скошенной питательной средой с агаром. Количество партий должно быть не менее двух. Одна партия является музейной и используется для длительного хранения чистых культур грибов (далее – музейная). Другая партия – исходная и необходима для получения рабочих партий культур грибов (далее – исходная).

2.3. Количество исходных и рабочих партий зависит от объема испытаний.

2.4. Исходная партия культур грибов обновляется один раз в три месяца.

2.5. Рабочие партии культур грибов выращивают за 14 сут до начала испытаний и используют для получения споровой суспензии грибов.

2.6. Культуры грибов пересевают в пробирки на скошенную твердую питательную среду в пылезащитном боксе, предварительно продезинфицированном.

2.7. На пробирках обозначают виды грибов и дату пересева, которую заносят в журнал регистрации пересева культур грибов.

2.8. Культуры грибов пересевают в пробирки при помощи бактериологической петли, прокаленной над пламенем спиртовой горелки. Петлю изготовляют из проволоки (платиновой, хромовой, никелевой, молибденовой) диаметром 0,6 мм, длиной 120 мм. Проволоку укрепляют в стеклянном или металлическом держателе.

2.9. Пробирки, засеянные спорами грибов, помещают в термостат при температуре (29 ± 2) ºС на 10 – 14 сут до появления зрелого спороношения.

2.10. Культуры грибов проверяют на соответствие пересеянному виду и чистоту.

3. Хранение культур грибов методом периодических пересевов

3.1. Музейную партию культур грибов хранят в пробирках на скошенной питательной среде с агаром и пересевают один раз в шесть месяцев.

Не допускается более семи последовательных пересевов этой партии в течение трех лет.

3.2. Пробирки с чистыми культурами грибов хранят в холодильнике при температуре (7 ± 3) °С.

4. Хранение культур грибов в стерильной почве

4.1. Для хранения музейной партии грибов используют стерильную садовую плодородную почву.

4.2. Почву просеивают через сито, рассыпают по пробиркам по 5 г и стерилизуют в автоклаве при давлении 100 кПа по 30 мин в течение трех суток. После автоклавирования пробирки с почвой подсушивают при комнатной температуре в течение двух-трех суток.

4.3. Культуры грибов выращивают на скошенной поверхности среды Чапека – Докса с агаром и с помощью бактериологической петли переносят в пробирки со стерильной почвой.

4.4. Ватные пробки обрезают вровень с краями пробирки и заливают парафином.

4.5. Культуры грибов в стерильной почве хранят в холодильнике при температуре (7 ± 3) °С или при комнатной температуре в течение трех лет без пересева.

4.6. Для восстановления культур грибов комочки почвы стерильно переносят в пробирки со средой Чапека – Докса с агаром и выращивают по п. 2.10.

4.7. Рекомендуется иметь несколько музейных партий культур грибов в стерильной почве и использовать их для получения исходных партий.

5. Питательные среды для выращивания и хранения культур грибов

5.1. Для выращивания всех культур грибов используют среду Чапека – Докса с агаром или сусло-агар с содержанием сахара 6 °Б.

5.2. Для выращивания и хранения Aureobasidium pullulans используют среду Сабуро с агаром.

5.3. Для выращивания и хранения Aspergillus penicilloides используют сусло-агар с 60 % сахарозы.

5.4. Для длительного хранения остальных культур грибов используют обедненные среды: картофельно-морковную, картофельно-глюкозную и сусло-агар с содержанием сахара 3,5 °Б.

Приложение 3

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СУСПЕНЗИИ И КОНТРОЛЬ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ СПОР ГРИБОВ

1. Приготовление суспензии спор грибов

1.1. Для испытаний используют суспензию с концентрацией спор каждого вида гриба 1 – 2 млн/см^3.

1.2. Для приготовления суспензии спор используют рабочую партию культур грибов возрастом от 14 до 28 сут, считая со дня пересева. Рабочую партию каждого вида гриба используют не более трех раз.

1.3. В зависимости от метода испытаний суспензию готовят в стерильной дистиллированной воде или среде Чапека – Докса.

1.4. Суспензию спор готовят отдельно для каждого вида гриба. Для этого в пробирку или колбу, содержащую (25 ± 5) см^3 стерильной дистиллированной воды или среды Чапека – Докса, переносят споры гриба из пробирки с чистой культурой.

1.5. Споры переносят при помощи бактериологической петли, прокаленной над пламенем спиртовой горелки. При взятии спор из пробирки не следует касаться петлей питательной среды.

1.6. Суспензию спор каждого вида гриба тщательно перемешивают встряхиванием до разделения всех комочков спор и отфильтровывают через четыре слоя стерильной марли от кусочков мицелия, агара и комочков спор.

1.7. Концентрацию спор каждого вида гриба подсчитывают при помощи счетной камеры Горяева или фотоэлектрического концентрационного колориметра (КФК-2).

1.8. Концентрацию спор грибов с помощью камеры Горяева определяют по соответствующей инструкции.

1.9. Определение концентрации спор грибов с помощью прибора КФК-2 – по МУ 2.853.013.

Для определения концентрации спор грибов 1 – 2 млн/см^3 используют светофильтр λ = 400 нм и кювет l = (50 ± 0,5) мм.

Оптическая плотность растворов, соответствующих концентрации 1 – 2 млн/см^3 каждого вида гриба, приведена в таблице.

Вид грибов	**Оптическая плотность *D***
Aspergillus niger	0,220 – 0,440
Aspergillus terreus	0,190 – 0,380
Paecilomyces varioti	0,280 – 0,550
Penicillium ochrochloron	0,215 – 0,425
Penicillium funiculosum	0,100 – 0,200
Scopulariopsis brevicaulis	0,060 – 1,140
Trichoderma viride	0,235 – 0,470

Примечание. Концентрацию спор грибов Aureobasidium pullulans подсчитывают только при помощи камеры Горяева ввиду особенностей спороношения данного вида.

1.10. Суспензию спор каждого вида гриба смешивают в равных объемах и используют для заражения изделий.

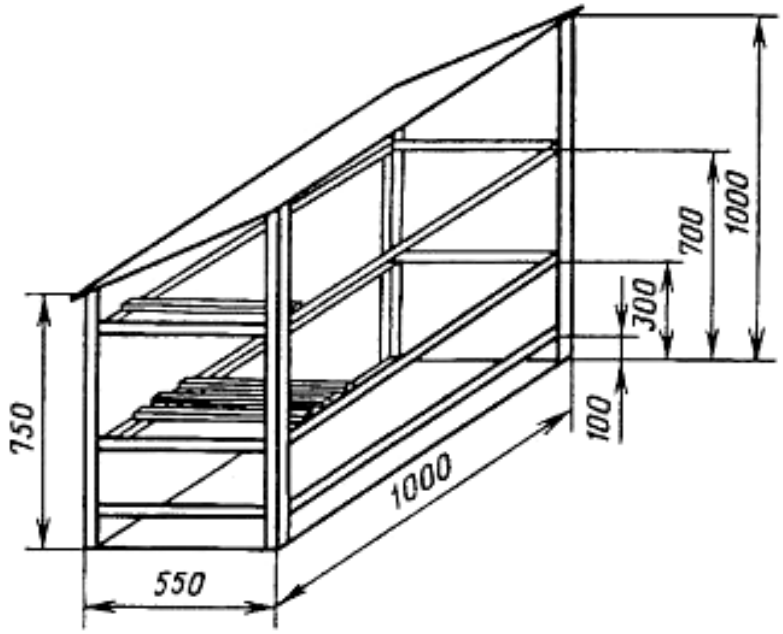
1.11. Срок хранения суспензии спор грибов, приготовленной на дистиллированной воде, – не более шести часов с момента приготовления.

Срок хранения суспензии, приготовленной на среде Чапека – Докса, – не более двух часов.

Приложение 4

Микологический стенд для испытания образцов на микробиологическую стойкость

Эскиз микологического стенда для испытаний образцов на микробиологическую стойкость приведен на чертеже.



Стенд состоит из каркаса и укрепленных в нем рам, на которые кладут съемные планки для крепления образцов. Каркас изготовляют из стального уголка и окрашивают.

Наклонную крышу стенда покрывают шифером.

Стенки стенда изготовляют из оргстекла, две из них – выдвижные.

Планки изготовляют из алюминия, его сплавов или из стали, защищенной покрытиями. Планки должны быть размещены на расстоянии не менее 5 см друг от друга. Нижняя рама должна находиться на расстоянии 25 – 30 см от поверхности земли.

Приложение 5

Выделение микроорганизмов с образцов

При степени развития микроорганизмов на образцах 4 – 5 балла выделение микроорганизмов проводят, снимая отпечаток материала на твердую питательную среду или стерильную липкую ленту, делают соскоб частиц материала или мазок с помощью стерильного марлевого тампона.

Соскобы, тампоны, кусочки ленты переносят на питательную среду или в стерильные стеклянные емкости.

При степени развития микроорганизмов на образцах 2 – 3 балла выделение микроорганизмов проводят стерильной иглой под микроскопом с образца или переносом мицелия на питательную среду после выдерживания образца по влажной камере в течение 5 – 7 сут.

Перед выделением микроорганизмов пробирки, тампоны стерилизуют в автоклаве по ГОСТ 9.048-89. Липкую ленту стерилизуют ультрафиолетовым облучением в течение 30 мин.

Приложение 6

Родовой состав плесневых грибов различных климатических районов

Характеристика климатического района	**Родовой состав плесневых грибов**
Умеренно влажный	Fusarium, Aspergillus, Penicillium, Botrychricum, Stachybotrus, Cladosporium, Curvularia, Chlatanlum
Умеренный	Penicillium, Aspergillus
Умеренно теплый влажный	Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Alternaria
Теплый влажный	Aspergillus, Penicillium, Domatiaccal, Trichoderma, Cladosporium, Fusarium

СЛОВАРЬ

Актиномицеты – порядок бактерий, образующих ветвящиеся клетки, или гифы. В отличие от микроскопических грибов актиномицеты не имеют оформленного ядра и клеточных перегородок внутри мицелия.

Антибиотики – вещества природного, полусинтетического или синтетического происхождения, подавляющие рост живых клеток, чаще всего прокариотических или простейших.

Бактерициды – химические вещества, убивающие бактерии. (Известны также вещества бактериостатического действия, которые не убивают бактерии, а препятствуют их развитию).

Биодеструктор – организм, повреждающий материал.

Биозасорение – состояние объекта, связанное с присутствием биофактора, после удаления которого восстанавливаются функциональные свойства объекта.

Биокоррозия – разрушение конструкционных материалов и противокоррозионных защитных покрытий под действием присутствующих в среде микроорганизмов (бактерий, грибов, водорослей, дрожжей).

Биологическая стойкость материала – способность материала противостоять разрушающему воздействию микроорганизмов (грибов, бактерий, актиномицетов, водорослей, дрожжей).

Биологический фактор – организмы или их сообщества, воздействие которых на объект техники нарушает его работоспособное состояние.

Биоповреждение (биологическое повреждение) – это любое изменение (нарушение) структурных и функциональных характеристик объекта, вызываемое биологическим фактором.

Биосфера – оболочка Земли, состав, структура и энергетика которой в существенных чертах обусловлены прошлой или современной деятельностью живых организмов.

Биоциды – химические вещества, предназначенные для борьбы с вредными (в том числе болезнетворными) организмами.

Гидрофобные покрытия – тонкие слои несмачивающихся водой веществ на поверхности гидрофильных материалов.

Гифы – нитевидные образования у грибов, состоящие из многих клеток или содержащие множество ядер.

Дрожжи – внетаксономическая группа одноклеточных грибов, утративших мицелиальное строение в связи с переходом к обитанию в жидких и полужидких, богатых органическими веществами субстратах.

Кремнийорганические защитные покрытия – покрытия на основе полиорганосилоксанов, предназначенные для внешней отделки различных сооружений, работающие в условиях агрессивных сред, повышенных или циклически меняющихся температур, высокой влажности и т. д.

Лакокрасочные материалы (ЛКМ) – это композиционные составы, наносимые на отделываемые поверхности в жидком или порошкообразном виде равномерными тонкими слоями и образующие после высыхания и отвердения пленку, имеющую прочное сцепление с основанием. Сформировавшуюся пленку называют лакокрасочным покрытием, свойством которого является защита поверхности от внешних воздействий (воды, коррозии, температур, вредных веществ), придание ей определенного вида, цвета и фактуры.

Лакокрасочные покрытия (ЛПК) – это покрытия, образующиеся в результате пленкообразования (высыхания, отверждения) лакокрасочных материалов, нанесенных на поверхность (подложку).

Метаболизм (обмен веществ) – набор химических реакций, которые возникают в живом организме для поддержания жизни, позволяют организмам расти и размножаться, сохранять свои структуры и отвечать на воздействия окружающей среды.

Микологическая площадка – площадка не менее 0,5 га, размещенная в низменной местности, защищенная от действия ветра, с высокой влажностью воздуха, а также затененная двух-, трехъярусной

растительностью. Почва микологической площадки должна быть с высоким стоянием грунтовых вод, местами заболоченная. Растительность на микологической площадке нельзя обрабатывать химическими препаратами. Почвенно-растительная характеристика микологической площадки должна быть типичной для данного климатического района.

Микологический стенд – техническое устройство для установки объекта испытаний на микробиологическую стойкость в природных условиях.

Микробный антагонизм – угнетение роста одного микроба другим, одна из форм взаимоотношений между микроорганизмами в ассоциациях.

Мицелий – грибница, вегетативное тело гриба, состоит из тонких (1,5 – 10 мкм в поперечнике) разветвленных нитей (гиф). Развивается обычно внутри субстрата, реже – на его поверхности.

Наполнители – вещества, которые вводят в состав пластических масс, резины, клеев, лакокрасочных материалов для облегчения их переработки, придания необходимых эксплуатационных свойств (прочностных, электрических, фрикционных и др.), а также удешевления.

Наземные климатические испытательные станции – предназначены для испытаний образцов в атмосферных условиях любых климатических районов на суше.

Оксидоредуктаза – это фермент, катализирующий реакции окисления и восстановления, т. е. перенос электронов от донора к акцептору.

Патогенные микроорганизмы – это микроорганизмы, которые вызывают болезни растений, животных и человека.

Пигмент – красящее высокодисперсное порошкообразное вещество, не растворяющееся в воде, органических растворителях и связующих веществах (смолах, маслах и др.).

Питательная среда – однокомпонентный или многокомпонентный субстрат, применяемый для культивирования микроорганизмов или культур клеток высших организмов.

Пластификаторы – вещества, повышающие пластичность и (или) эластичность полимерных материалов при их переработке и (или) эксплуатации.

Плесневые грибы – различные грибы (в основном, зиго- и аскомицеты), образующие ветвящиеся мицелии без крупных, легко заметных невооруженным глазом плодовых тел.

Пленкообразующие вещества – вещества, способные образовывать тонкие прочные пленки. К ним относятся растительные масла, природные и синтетические высокомолекулярные соединения, эфиры целлюлозы, животные клеи, жидкое стекло, декстрин, казеин.

Поливинилхлорид – преимущественно линейный термопластичный полимер винилхлорида, общей формулы $[-CH_2-CHCl-]_n$.

Поликарбонат – термопласт, представляющий сложный полиэфир угольной кислоты и двухатомного спирта общей формулы $(-O-R-O-CO-)_n$.

Полимерные материалы – материалы на основе высокомолекулярных соединений, молекулы которых состоят из большого числа повторяющихся группировок (мономерных звеньев), обычно многокомпонентные и многофазные.

Полимерные связующие – это синтетические или природные органические вещества, способные самопроизвольно или под действием различных факторов (веществ-отвердителей, температуры и др.) переходить из жидкого состояния в твердое, и как в жидком состоянии, так и после отвердевания имеющих хорошую адгезию к другим материалам. Полимерные связующие в исходном состоянии могут быть высокомолекулярными веществами, веществами со средней молекулярной массой (в пределах 100 ... 1000) – так называемыми олигомерами или низкомолекулярными мономерными веществами. Однако все они в процессе отвердевания переходят в высокомолекулярные полимерные вещества.

Полиуретан – гетероцепные полимеры, содержащие незамещенные и (или) замещенные уретановые группы -N(R)-C(O)O- (R = H, алкил, арил или ацил).

Полиэтилен – термопластичный полимер этилена, имеющий в своем составе длинные молекулы $[-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-]_n$.

Сапротрофы – гетеротрофные организмы, использующие для питания органические соединения мертвых тел или выделения (экскременты) животных.

Стандарты ASTM (American Society for Testing and Materials) – стандарты Американского международного общества по испытанию материалов, разрабатывающего и издающего добровольные стандарты для материалов, продуктов, систем и услуг.

Термопластичные синтетические смолы – смолы, сохраняющие при известных температурах постоянную плавкость и пластичность (пластмассы на основе полимеризационных смол, сложных и простых эфиров, целлюлозы, асфальтобитумные и др.).

Термореактивные синтетические смолы – смолы, обладающие плавкостью и пластичностью лишь в ограниченных температурных границах, выше которых, теряя указанные свойства, они переходят в неплавкое и нерастворимое состояния (в основном пластмассы, изготовленные на основе поликонденсационных смол).

Тест-культура – стандартная или изучаемая культура, у которой испытывают какое-либо свойство (чувствительность к фагам, бактериоцинам, антибиотикам).

Тургорное давление – напряженное состояние клеточной оболочки, создаваемое гидростатическим давлением внутриклеточной жидкости.

Химическая деструкция – общее название процессов, протекающих с разрывом химических связей в макромолекулах и приводящих к уменьшению степени полимеризации или молекулярной массы полимера.

Штаммы – культуры микробов или образцов вируса одного наименования, с одинаковыми или различными свойствами, но отличающиеся происхождением.

Ферменты гидролитические – ферменты, под влиянием которых сложные органические вещества, присоединяя воду, распадаются на более простые составные части, т. е. подвергаются гидролизу.

Фунгициды – химические вещества, уничтожающие вредоносные грибы.

Фунгистатические вещества – вещества, которые не убивают клетку, а только ограничивают ее развитие. К фунгистатическим веществам относится ряд медикаментов, например сульфамидные препараты, парааминобензойная кислота, антибиотики и др.

Эстеразы – ферменты, катализирующие в клетках гидролитическое расщепление сложных эфиров на спирты и кислоты при участии молекул воды.

Учебное издание

САХНО Ольга Николаевна
СЕЛИВАНОВ Олег Григорьевич
ЧУХЛАНОВ Владимир Юрьевич

БИОСТОЙКОСТЬ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И МЕТОДЫ ЕЕ ОЦЕНКИ

Учебное пособие

Редактор Е. С. Глазкова
Технический редактор А. В. Родина
Корректор Н. В. Пустовойтова
Компьютерная верстка Е. А. Герасиной
Выпускающий редактор А. А. Амирсейидова

Подписано в печать 19.10.18.
Формат 60×84/16. Усл. печ. л. 4,88. Тираж 50 экз.
Заказ
Издательство
Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых.
600000, Владимир, ул. Горького, 87.